



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS**

DOUTORADO

**ECOEPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA DE CHAGAS EM UMA
REGIÃO DO ESTADO DA BAHIA, BRASIL**

FLAVIA DOS SANTOS

Veterinária

**SALVADOR – BA
JUNHO - 2022**

FLAVIA DOS SANTOS

**ECOEPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA DE CHAGAS EM UMA REGIÃO
DO ESTADO DA BAHIA, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal nos Trópicos.

Orientador: Prof^o. Dr. Carlos Roberto Franke

Coorientador: Prof^o. Dr. Jairo Torres Magalhães-Junior

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Ianei de Oliveira Carneiro

**Salvador - BA
Junho - 2022**

Santos, Flavia dos.

Ecoepidemiologia da doença de Chagas em uma região do estado da Bahia, Brasil / Flavia dos Santos. - 2022.

96 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto Franke.

Coorientador: Prof. Dr. Jairo Torres Magalhães-Junior.

Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2022.

1. Medicina Veterinária. 2. Epidemiologia Veterinária. 3. Chagas, Doença de - Transmissão - Bahia. 4. Insetos como transmissores de doenças - Bahia. I. Franke, Carlos Roberto. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 616.9363098142

CDU - 616.937(813.8)

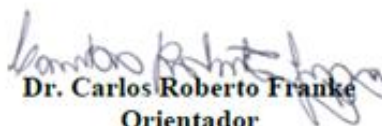
Ecoepidemiologia da doença de Chagas em uma região do estado da Bahia, Brasil

FLÁVIA DOS SANTOS

**Tese defendida e aprovada para obtenção do grau de Doutora em Ciência Animal
nos Trópicos**

Salvador, 02 de junho de 2022

Comissão examinadora:


Dr. Carlos Roberto Franke
Orientador
EMEVZ / UFBA

Dr. Carlos Eduardo Almeida
UFBA

Dr. João Aristeu da Rosa
UNESP

Dr. Aristeu Vieira da Silva
UEFS

Dr. Jader de Oliveira
USP


Dr. Luis Fernando Pita Gondim
Coordenador PPGCAT
EMEVZ / UFBA

Salvador - BA
Junho – 2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FLAVIA DOS SANTOS – Nascida em 24 de maio de 1985, na cidade de Queimadas-BA. Possui Graduação em Medicina Veterinária pela UFBA (2010); possui mestrado em Ciência Animal nos Trópicos pela UFBA (2012); lecionou na Faculdade de Tecnologia e Ciências (FTC) (2012 - 2015) e na Faculdade Anísio Teixeira (FAT) (2015); atuou como professora substituta no Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Baiano (IFBAIANO/*Campus* Catu) (2013 - 2015); atuou como técnica em agropecuária na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão do Instituto Federal do Ceará (UEPE/IFCE/*Campus* Limoeiro do Norte) (2015 – 2017). Atualmente é professora assistente da Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB/*Campus* Barra), lecionando nos cursos de graduação em Medicina Veterinária e Agronomia (2017 – 2022), e doutoranda do Programa Ciência Animal nos Trópicos pela UFBA (2019 – 2022).

*“Nossa tarefa deveria ser nos libertarmos ...
aumentando o nosso círculo de compaixão para
envolver todas as criatura viventes, toda a
natureza e sua beleza.”*

(Albert Einsten)

*Dedico ao meu marido, Victor
das Neves, pela paciência e
compreensão.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS e a OXUM por ter colocado as pessoas certas no meu caminho nos momentos de dúvidas e incertezas. A fé me manteve firme e forte para continuar tentando.

Ao meu orientador, Prof. Franke, e aos meus coorientadores, Prof. Jairo e Prf^a Ianei, por terem acreditado e confiado em mim. Gratidão eterna por todos os ensinamentos e amizade. Sei o quanto vocês se dedicaram para realização desse estudo.

Aos meus orientados de PIBIC, Alini, Jessica, Joane e Marcondes, por oxigenarem meu cérebro com as discussões de artigos científicos e por toda a ajuda durante as atividades de campo. Também agradeço aos estudantes e servidores da UFOB que ajudaram de alguma forma a condução desse estudo.

A Dona Terezinha, Seu Joaquim e Cristiane Medeiros, servidores públicos envolvidos no programa de Controle da doença de Chagas no Estado da Bahia, por todos os ensinamentos.

Aos pesquisadores da FIOCRUZ Bahia pela colaboração e apoio laboratorial, que possibilitaram a realização de etapas imprescindíveis do projeto.

A Sabrina e Bárbara por me receberem no BIOMOL (UFBA) durante a pandemia do COVID-19. Especialmente a “Bina” por ter me tranquilizado quando tudo parecia impossível. Com suas orientações consegui responder aos revisores e finalizar as análises de biologia molecular. Tenho uma dívida eterna com você! GRATIDÃO!

Gostaria de agradecer aos meus amigos, que foram solidários e disponibilizaram um pouquinho do seu tempo para escutar minhas queixas e lamentações, especialmente: Larissa, Ellenise, Paula, Layze, Ana Carla, Eumara, Mônica, Vanessa Melo e Fábio.

Agradeço também aos servidores técnicos (Vinícius e Rodrigo) e professores do Programa de pós-graduação. Lamento a perda do nosso amigo GUGA, mas sei que ele está em um lugar bem melhor torcendo por nós.

RESUMO

SANTOS, F. **Ecoepidemiologia da doença de Chagas em uma região do Estado da Bahia, Brasil**. 2022. 96p. Tese (Doutora em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal da Bahia, 2022.

Este estudo teve como objetivo caracterizar o papel vetorial dos triatomíneos encontrados no distrito de Santo Inácio, Bahia, Nordeste do Brasil e estimar a frequência de infecção por *T. cruzi* nesses vetores, bem como em cães, mamíferos silvestres e humanos. As possíveis fontes alimentares de sangue dos triatomíneos foram analisadas. Além disso, avaliou a percepção, o conhecimento e as práticas preventivas adotadas pela população em relação à doença de Chagas (DC). Os residentes amostrados (n = 126) foram soronegativos para *T. cruzi*, enquanto que 17,5% (7/40) dos cães amostrados foram soropositivos. Dos mamíferos silvestres capturados, um espécime de *Didelphis albiventris* (1/3) e outro de *Kerodon rupestris* (1/5) foram positivos para *T. cruzi* por PCR. Nenhum *Thrichomys* sp. (0/23) foi positivo para *T. cruzi*. Dos 169 triatomíneos capturados, a espécie *Triatoma sherlocki* foi a mais prevalente (n = 164), seguida das espécies *Triatoma sordida* (n = 4) e *Panstrongylus sherlocki* sn *Panstrongylus lutzi* (n = 1). A taxa de infecção para *T. cruzi* por PCR nas espécies de triatomíneos analisadas foi de 18,5% (28/151), 0% (0/3) e 100% (1/1), respectivamente. A detecção da fonte alimentar foi possível em 56 triatomíneos da espécie *T. sherlocki*. A espécie *K. rupestris* foi a mais frequente fonte alimentar (35,7%), seguida por *Gallus gallus* (17,9%), *D. albiventris* (14,3%), *Homo sapiens* (14,3%), *Tropidurus hispidus* (7,1%), *Leopardus geoffroyi* (5,3%), *Conepatus semistriatus* (1,8%), *Thrichomys inermis* (1,8%) e *Rattus norvegicus* (1,8%). Os residentes têm percepção e conhecimento limitados sobre a DC, refletindo na baixa adoção de práticas de prevenção e controle de triatomíneos em seus domicílios. Os resultados sugerem a existência dos ciclos doméstico, peridoméstico e silvestre de transmissão de *T. cruzi*, configurando um risco latente de infecção para a população humana.

Palavras-chave: doença de Chagas; fonte alimentar; hospedeiros; questionário; triatomíneos

ABSTRACT

SANTOS, F. **Ecoepidemiology of Chagas disease in a region of the state of Bahia, Brazil.** 2022. 96p. Tese (Doutora em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal da Bahia, 2022.

This study aimed to characterize the vectorial role of triatomines found in the district of Santo Inácio, Bahia, Northeastern Brazil, and to estimate the frequency of infection by *T. cruzi* in these vectors, as well as in dogs, wild mammals and humans. Possible blood food sources of triatomine were analyzed. In addition, it assesses the perception, knowledge, and preventive practices adopted by the population about Chagas disease (CD). Residents sampled (n = 126) were seronegative for *T. cruzi*, while 17.5% (7/40) of the dogs sampled were seropositive. Of the wild mammals captured, one specimen of *Didelphis albiventris* (1/3) and another of *Kerodon rupestris* (1/5) were positive for *T. cruzi* by PCR. None *Thrichomys* sp. (0/23) was positive for *T. cruzi*. Of the 169 triatomines captured, the species *Triatoma sherlocki* was the most prevalent (n = 164), followed by the species *Triatoma sordida* (n = 4) and *Panstrongylus sherlocki* sn *Panstrongylus lutzi* (n = 1). The infection rate for *T. cruzi* by PCR in the triatomine species analyzed was 18.5% (28/151), 0% (0/3) and 100% (1/1), respectively. The detection of the food source was possible in 56 triatomines of the species *T. sherlocki*. The species *K. rupestris* was the most frequent food source (35.7%), followed by *Gallus gallus* (17.9%), *D. albiventris* (14.3%), *Homo sapiens* (14.3%), *Tropidurus hispidus* (7.1%), *Leopardus geoffroyi* (5.3%), *Conepatus semistriatus* (1.8%), *Thrichomys inermis* (1.8%) and *Rattus norvegicus* (1.8%). The residents have limited perception, and knowledge about CD, reflecting the low adoption of prevention and control practices for triatomines in their dwellings. The results suggest the existence of domestic, peridomestic and wild cycles of *T. cruzi* transmission, configuring a latent risk of infection for the human population.

Keywords: Chagas disease; blood meal; hosts; questionnaire; triatomine.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

Figura 1 Espécies de triatomíneos capturadas no distrito de Santo Inácio, município de Gentio do Ouro, Bahia. (A) *Triatoma sherlocki*; (B) *Triatoma sordida*; (C) *Panstrongylus sherlocki* sn *Panstrongylus lutzi* 21

CAPÍTULO 1 - Ecoepidemiology of vectorial *Trypanosoma cruzi* transmission in a region of northeast Brazil.

Figure 1 Characterization of the sampling site. (A) Brazil, state of Bahia, municipality of Gentio do Ouro with the highlight on the district of Santo Inácio (QGis 3.12). (B) Headquarters of the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, surrounded by rocky-outcrops (Google Earth®, 2020) 26

Figure 2 Characteristics of households and proximity to a wild environment. (A) Rocky-outcrops surrounding the dwellings and considered major ecotopes of *T. sherlocki*. (B) Peridomicile with rock formations serving as a shelter for a dog and triatomines. (C) Dog in the peridomicile, with accumulation of diverse materials in the background, serving as a hiding place for triatomines 33

CAPÍTULO 2 - Mamíferos silvestres envolvidos na transmissão de *Trypanosoma cruzi* e as fontes alimentares de *Triatoma sherlocki* (Papa et al., 2002) em uma região endêmica do Nordeste do Brasil.

Figura 1 Sede do distrito de Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brasil, destacando os quadrantes (Q1, Q2, Q3 e Q4) onde ocorreram as capturas de animais silvestres e triatomíneos. Fonte: Google Earth® 58

Figura 2 Ambiente silvestre do distrito de Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brasil. (A) Comportamento diurno da ninfa de *Triatoma sherlocki*. (B) Tentativa de repasto sanguíneo em humano por uma ninfa de *T. sherlocki*. (C) Exposição humana aos triatomíneos durante atividade de caça: abate de um espécime de *Kerodon rupestris* por um morador da área do estudo. Fonte: arquivo pessoal 66

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - Ecoepidemiology of vectorial *Trypanosoma cruzi* transmission in a region of northeast Brazil.

Table 1 Natural infection index for <i>T. cruzi</i> in triatomines collected in the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brazil, from 2018 to 2019	31
Table 2 Descriptive and statistical analysis of questionnaires on perception, knowledge, and practices in relation to triatomines and Chagas disease obtained from 47 providers and their association with the infestation index of triatomine in households in the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brazil, from 2018 to 2019	35
Supplementary Table 1 Descriptive analysis of demographic data of residents of the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brazil, in the period 2018 to 2019	44
Supplementary Table 2 Descriptive and statistical analysis of the demographic and clinical data of 40 dogs and their association with seropositivity for <i>T. cruzi</i> in the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brazil in 2019.....	45
Supplementary Table 3 Descriptive and statistical analysis of the structural and environmental characteristics of the 48 households and their association with the rate of triatomine infestation in households in the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brazil, in the period 2018 to 2019	46

CAPÍTULO 2 - Mamíferos silvestres envolvidos na transmissão de *Trypanosoma cruzi* e as fontes alimentares de *Triatoma sherlocki* (Papa et al., 2002) em uma região endêmica do Nordeste do Brasil.

Tabela 1 Características de 31 animais silvestres pertencentes às espécies <i>Thrichomys</i> sp., <i>Kerodon rupestris</i> e <i>Didelphis albiventris</i> capturados no ambiente silvestre do distrito de Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brasil, no período de novembro de 2018 a fevereiro de 2019	64
Tabela 2 Características de 169 triatomíneos capturados no distrito de Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brasil, no período de novembro de 2018 a fevereiro de 2019	65
Tabela 3 Fonte alimentar de sangue de 56 triatomíneos da espécie <i>T. sherlocki</i> , capturados em ambiente silvestre e doméstico do distrito de Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brasil, no período de novembro de 2018 a fevereiro de 2019	67

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

BLAST - Basic Local Alignment Search Tool

CD - Chagas disease

CEP – Comitê de ética em pesquisa

CEUA – Comitê de ética no uso de animais

CI - confidence interval

CMB – Centro Multidisciplinar do *Campus* de Barra

Cytb – Citocromo b

DC - doença de Chagas

DNA- Ácido desoxirribonucleico

dNTP - Desoxinucleotídeo Tri-fosfato

DPP - Dual Path Platform

DTUs - *Discrete Typing Unit* (unidades discretas de tipificação)

EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA - Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IBMP – Molecular Biology Institute of Paraná

ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação e Biodiversidade

IGM - Instituto Gonçalo Moniz

ISC – Instituto de Saúde Coletiva

MgCl₂ - Cloreto de Magnésio

LASP – Laboratório de Saúde Pública

LBCM - Laboratório de Biologia Celular e Molecular

LPBM – Laboratório de Patologia e Biologia Molecular

NCBI - National Center for Biotechnology Information

PBS - Phosphate Buffered

PCDCh - Programa Nacional de Controle da doença de Chagas

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

PEG800 – Polietilenoglicol

Primers- Oligonucleotídeos iniciadores

PR - Prevalence ratios

TBE – Tris borato EDTA

UFBA – Universidade Federal da Bahia

UFOB - Universidade Federal do Oeste da Bahia

UNIFACS – Universidade Salvador

UV- Luz ultravioleta

SESAB – Secretaria da Saúde da Bahia

SEI - Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia

SISBIO - Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

WHO - *World Health Organization*

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	18
HIPÓTESE	22
OBJETIVOS	22
CAPÍTULO 1 - Ecoepidemiology of vectorial <i>Trypanosoma cruzi</i> transmission in a region of northeast Brazil	23
ABSTRACT.....	23
INTRODUCTION	24
MATERIAL AND METHODS	25
RESULTS	30
DISCUSSION	37
CONCLUSION.....	43
ACKNOWLEDGMENTS	44
SUPPLEMENTARY DATA	44
REFERENCES	47
CAPÍTULO 2 - Mamíferos silvestres envolvidos na transmissão de <i>Trypanosoma cruzi</i> e as fontes alimentares de <i>Triatoma sherlocki</i> (Papa et al., 2002) em uma região endêmica do Nordeste do Brasil	54
RESUMO.....	54
ABSTRACT.....	55
INTRODUÇÃO	55
MATERIAL E MÉTODOS	57

RESULTADOS	63
DISCUSSÃO	68
CONCLUSÕES	73
DADO SUPLEMENTAR.....	74
REFERÊNCIAS.....	75
CONSIDERAÇÕES FINAIS	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
APÊNDICE 1 – Print da primeira página do artigo do Capítulo 1	86
APÊNDICE 2 – Print do comprovante de submissão do artigo do Capítulo 2.....	87
APÊNDICE 3 – Questionário sobre a doença de Chagas	88
ANEXO 1 – Autorização do ICMBio/SISBIO para captura de animais silvestres.....	94
ANEXO 2 - Autorização do CEP para coleta de amostras em humanos	95
ANEXO 3 - Autorização do CEUA/UFBA para coleta de amostras em cães	96

INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) é uma antropozoonose causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1909) (Kinetoplastida, Trypanosomatidae), que é transmitido entre os hospedeiros vertebrados (mamíferos silvestres, domésticos e humanos) pelos triatomíneos, os quais são insetos hematófagos, conhecidos popularmente como “barbeiros ou bicudos”. A DC ocorre em toda a América e estima-se cerca de seis – sete milhões de casos humanos, 12.000 mortes por ano e aproximadamente 25 milhões de pessoas em situação de risco no continente (WHO, 2020). No Brasil, há cerca de 4,6 milhões de portadores da DC (DIAS et al., 2016; MARTINS-MELO et al., 2014). Segundo dados do Ministério da Saúde, o Estado da Bahia apresentou um média anual de 622 óbitos por DC no período de 2010 a 2018, estando dentre os cinco principais Estados brasileiros com maior taxa de mortalidade (BRASIL, 2019). A DC é uma doença negligenciada que acomete principalmente populações com vulnerabilidades socioeconômica e ambiental (DIAS et al., 2016), especialmente nas zonas rurais com registro frequente de triatomíneos (DAFLON-TEIXEIRA et al., 2019; LIMA et al., 2012; VINHAES et al., 2014). A DC vem ganhando visibilidade em países de outros continentes (WHO, 2020) que não apresentam transmissão vetorial e oral, devido à ausência dos triatomíneos, mas em contrapartida ocorrem outras formas de transmissão de *T. cruzi*, como transmissão congênita, transfusão de sangue e doação de órgãos, exigindo assim, vigilância ativa de casos da doença nesses países que recebem indivíduos de regiões endêmicas para o protozoário (IMAI et al., 2019).

Existem três ciclos da transmissão de *T. cruzi*: o ciclo silvestre, que inclui os mamíferos e triatomíneos silvestres vivendo neste tipo de ambiente, especificamente compartilhando tocas e ninhos de animais; o ciclo doméstico, que ocorre em ambientes internos dos domicílios, envolvendo, humanos, animais domésticos (cães e gatos) e triatomíneos; e por fim, o ciclo peridoméstico que ocorre entre triatomíneos infestando edificações utilizadas para criação de animais domésticos (galinheiros e pocilgas), e/ou locais com acúmulo de material diverso (telhas, pedras e madeira) na área externa dos domicílios, que servem de abrigo para animais sinantrópicos, como roedores e marsupiais (COURA E DIAS, 2009). Esses ciclos de transmissão de *T. cruzi* podem ser independentes ou conectados pelo movimento de mamíferos domésticos, sinantrópicos e de triatomíneos infectados entre ambientes domésticos, peridomésticos e silvestres (CANTILLO-

BARRAZA et al., 2015; HERNÁNDEZ et al., 2016). Atividades antrópicas em ambiente silvestre como turismo, caça e agricultura podem oportunizar o transporte dos triatomíneos para os domicílios e o repasto sanguíneo em humanos no ambiente silvestre (ALMEIDA et al., 2016; BUITRAGO et al., 2013).

No mundo foram descritas 158 espécies de triatomíneos (ALEVI et al., 2021; GIL-SANTANA et al., 2022), sendo que 66 ocorrem no Brasil (GALVÃO, 2014; SOUZA et al., 2016), e destes, 26 foram registradas na Bahia (SOUSA et al., 2020). Esse Estado apresentou um dos últimos focos residuais de *Triatoma infestans* (RIBEIRO et al., 2019), que era o principal triatomíneo domiciliado no país, porém considerado controlado desde a década de 1990, por meio do Programa Nacional de Controle da doença de Chagas (PCDCh), que contou com ações voltadas para a melhoria da infraestrutura e aplicação de inseticidas dos domicílios (DIAS et al., 2016). No entanto, dada a diversidade de vetores de *T. cruzi*, existe o risco de transmissão por outras espécies de triatomíneos silvestres intrusivos e domiciliados. Esses triatomíneos são responsáveis atualmente pela transmissão vetorial, conectando os ciclos de transmissão de *T. cruzi* (ARAUJO-NETO, et al., 2019; LIMA et al., 2012; RIBEIRO et al., 2015; SANGENIS et al., 2015), a exemplo de *Triatoma brasiliensis* (Neiva, 1911), possivelmente associado a focos da DC na região Nordeste do país (ARAUJO-NETO et al., 2019; BEZERRA et al., 2014).

Os triatomíneos realizam hematofagia desde o primeiro estágio ninfal, infectando - se ao ingerir sangue de um hospedeiro portador de *T. cruzi*, ocorre então a reprodução do protozoário em seu organismo. A transmissão vetorial acontece quando da penetração das formas infectantes de *T. cruzi* na lesão produzida pela picada do vetor no hospedeiro. Alguns animais silvestres são considerados reservatórios, contribuindo com a manutenção de *T. cruzi*, mesmo em baixas frequências em determinadas regiões, a exemplo dos marsupiais os quais apresentam inclusive a capacidade de excretar formas infectantes de *T. cruzi* juntamente com secreções de suas glândulas odoríferas (JANSEN et al., 2018, 2020). Os marsupiais são sinantrópicos mantendo um importante elo entre o ciclo de transmissão silvestre e doméstico de *T. cruzi* (CANTILLO-BARRAZA et al., 2015; COSTA et al., 2015; HERRERA et al., 2005; NANTES et al., 2019). No ambiente doméstico, cães e gatos são considerados animais bioindicadores da circulação de *T. cruzi* (BEZERRA et al., 2014; CANTILLO-BARRAZA et al., 2015; DAFLON-TEIXEIRA et al., 2019). Carnívoros

domésticos têm maior chance de se infectarem via oral por *T. cruzi* ao pregar roedores infectados ou lambem o pelo com fezes de triatomíneos infectados (HERRERA et al., 2005).

Diversos animais silvestres e domésticos são considerados fonte alimentar para os triatomíneos (HERNÁNDEZ et al., 2016; LILIOSO et al., 2020). No entanto, nem todos os animais nos quais os triatomíneos se alimentam participam do ciclo de transmissão de *T. cruzi*, a exemplo de algumas espécies de répteis e aves, que são refratários ao protozoário (BOTTO-MAHAN et al., 2022; DAFLON-TEIXEIRA et al., 2019; FLORES-FERRER et al., 2019; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ et al., 2022). Os animais refratários podem manter populações de triatomíneos bem alimentadas e oportunizar a colonização intra e peridomiciliar, levando à ocorrência de casos humanos de DC (CANTILLO-BARRAZA et al., 2015). Para compreender a dinâmica entre os ciclos de transmissão de *T. cruzi* em ambiente doméstico, peridoméstico e silvestre de determinada região, é necessário analisar a biodiversidade de vertebrados utilizados na alimentação sanguínea pelos triatomíneos, bem como o possível papel desses como reservatórios de *T. cruzi*.

A área de estudo - distrito de Santo Inácio, município de Gentio do Ouro (Bahia) - é classificada como de alto risco para transmissão vetorial da DC desde 2006 (SESAB, 2018), existindo registros das espécies *Triatoma sherlocki* (PAPA et al., 2002), *Panstrongylus sherlocki* sn *Panstrongylus lutzi* (JURBERG et al., 2001) e *Triatoma sordida* (RIBEIRO et al., 2014) (Figura 1). Sobre as duas últimas espécies existe poucos relatos. *Panstrongylus sherlocki* sn *P. lutzi* é citado em estudo de caracterização morfológica, sem dados sobre infecção por *T. cruzi* (JURBERG et al., 2001), e *T. sordida* foi avaliado quanto à presença de diferentes cepas de *T. cruzi* (RIBEIRO et al., 2014). *Triatoma sherlocki* é a espécie silvestre mais frequente na região (COSTA et al., 2014; MENDONÇA et al., 2009). Ela foi coletada pela primeira vez em 1982 por Ruy Lopes Cerqueira e descrita em 2002 por Papa e colaboradores. Essa espécie apresenta altas taxas de infecção natural por *T. cruzi* (ALMEIDA et al., 2009; RIBEIRO et al., 2019). As aves foram a única fonte alimentar de sangue detectada na análise de populações silvestres de *T. sherlocki* (RIBEIRO et al., 2019), mas a alta frequência de infecção por *T. cruzi* nessa espécie de triatomíneo sugere o envolvimento de mamíferos selvagens na manutenção da transmissão do protozoário (ALMEIDA et al., 2009; RIBEIRO et al., 2019), uma vez que a maioria das aves são refratárias. A ocorrência de *T. sherlocki* em domicílios e seu possível envolvimento com animais domésticos (RIMOLDI et al., 2012) e humanos no ciclo de transmissão de *T. cruzi*

constitui um risco à saúde (ALMEIDA et al., 2009). O objetivo do presente estudo foi caracterizar o papel vetorial dos triatomíneos encontrados na região, estimar a frequência de infecção por *T. cruzi* nesses vetores, bem como em cães, mamíferos silvestres e humanos. Além de analisar as possíveis fontes alimentares de sangue dos triatomíneos. A percepção, conhecimento e práticas adotadas pela população em relação à DC também foram objetos de análise desse estudo, considerando que uma população bem informada pode exercer um importante papel, contribuindo com a notificação da presença de triatomíneos na região.

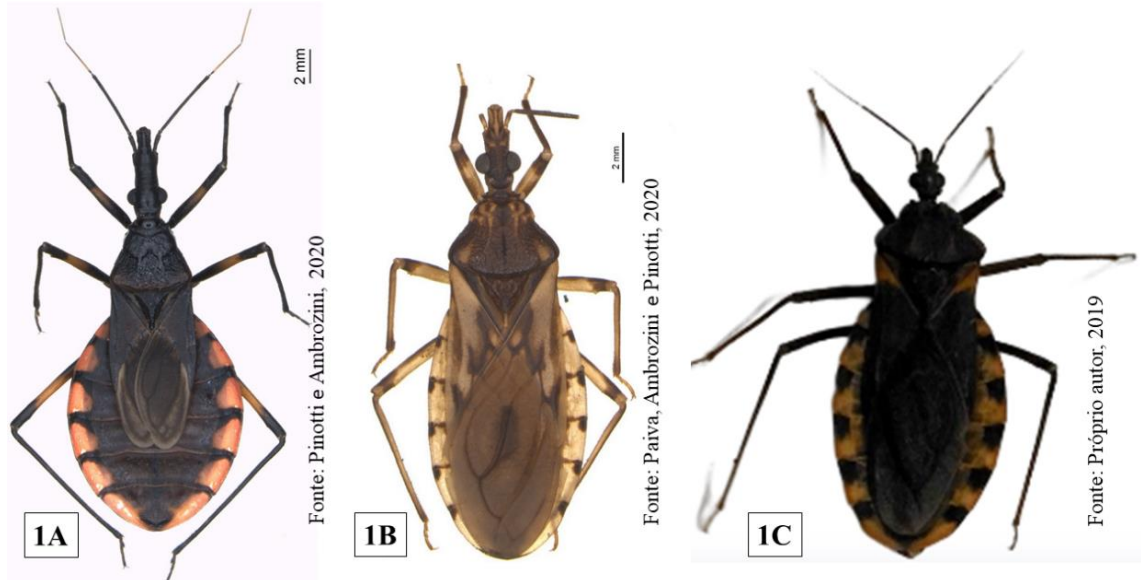


Figura 1. Espécies de triatomíneos capturadas no distrito de Santo Inácio, município de Gentio do Ouro, Bahia. (A) *Triatoma sherlocki*; (B) *Triatoma sordida*; (C) *Panstrongylus sherlocki* sn *Panstrongylus lutzi*.

HIPÓTESE

Apesar da Organização Pan-americana da Saúde (OPAS) ter declarado em 2006, o fim da transmissão vetorial de *Trypanosoma cruzi* por *Triatoma infestans* no Brasil, a presença de outras espécies de triatomíneos é capaz de manter ciclos de transmissão de *T. cruzi* envolvendo cães, animais silvestres e eventualmente humanos no distrito de Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Estudar a ecoepidemiologia da doença de Chagas no distrito de Santo Inácio, município Gentio do Ouro, Bahia, visando caracterizar o ciclo de transmissão de *T. cruzi*, envolvendo as populações de triatomíneos, cães, animais silvestres e humanos da região.

Objetivos Específicos

- Determinar a frequência de infecção por *T. cruzi* na população humana e de cães da comunidade por meio de testes sorológicos;
- Pesquisar a ocorrência de *T. cruzi* em triatomíneos, cães, mamíferos silvestres e humanos por meio de testes de PCR;
- Investigar a fonte alimentar de sangue em triatomíneos coletados no ambiente doméstico e silvestre;
- Avaliar a percepção, conhecimento e práticas da população associados à epidemiologia da doença de Chagas, por meio da aplicação de questionários.

CAPÍTULO 1 – Ecoepidemiology of vectorial *Trypanosoma cruzi* transmission in a region of Northeast Brazil¹

ABSTRACT - Chagas disease (CD) is a parasitic zoonosis endemic in Brazil. Despite virtual control of *Triatoma infestans*, the main domesticated vector of *Trypanosoma cruzi*, vectorial transmission by other triatomine species persists in some rural communities. This study aims to characterize triatomines role in transmitting *T. cruzi* to dogs and humans in the district of Santo Inácio, located in the northwest region of the state of Bahia, Brazil. It also describes environmental factors in housings associated with insect occurrence and assesses the perception, knowledge, and preventive practices adopted by the population regarding CD. Blood samples of humans and dogs, and biological samples of triatomines, were collected between November 2018 and February 2019 and subjected to the detection of *T. cruzi* by serological and molecular biology tests. Also, we applied a questionnaire to research the perception, knowledge, and local practices of people related to CD. The capture of triatomines in households was associated with exploratory variables of the questionnaires using multivariate logistic regression ($p < 0.05$). The 155 triatomines captured in the wild and domestic environment were of the species *Triatoma sherlocki* ($n = 151$), *Panstrongylus sherlocki* *sn* *Panstrongylus lutzi* ($n = 1$) and *Triatoma sordida* ($n = 3$), and had a natural infection rate for *T. cruzi* by PCR of 18.5%, 100% and 0%, respectively. District residents ($n = 126$) were seronegative for *T. cruzi*, while 17.5% (7/40) of the dogs were seropositive. The fact that residents are aware that triatomines can “cause” CD was configured as a protection factor for residents according to the fitted logistic regression model ($p = 0.04$). However, respondents have limited perception and knowledge about the CD, prevention and control practices for triatomines in a household. The results suggest the existence of a domestic cycle of transmission of *T. cruzi* between triatomines and dogs, configuring a latent risk of infection to the human population of Santo Inácio. Studies that clarify the potential for the establishing of intrusive triatomines in households, surveillance actions for triatomines, and health education in rural communities are indispensable to prevent the reemergence of CD in vulnerable regions of Brazil and other American countries with similar epidemiological characteristics.

¹ Artigo publicado na Revista Acta Tropica; ISSN: 0001-706X; QUALIS A1; <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106184>; Apêndice 1–Print da primeira página do artigo do Capítulo 1.

KEYWORDS: Chagas disease; Hosts; *Panstrongylus sherlocki*; *Triatoma sherlocki* *Triatoma sordida*; Knowledge Attitudes Practice.

1. INTRODUCTION

Chagas disease (CD) is a parasitic zoonosis caused by *Trypanosoma cruzi* and is usually transmitted between vertebrate hosts by triatomine insects popularly known as "the kissing bug" (Sousa et al., 2020). The disease is endemic in Latin America, especially in Brazil (WHO, 2015), with cases recorded in poor rural areas with triatomines frequent occurrence (Daflon-Teixeira et al., 2019; Lima et al., 2012; Vinhaes et al., 2014).

The implementation of the National Chagas Disease Control Program contributed to reducing the population of *Triatoma infestans* (Dias, 2016b), one of the main domiciled vectors in the region, currently with records of residual foci in the state of Bahia (Ribeiro et al., 2019). However, given the diversity of *T. cruzi* vectors, there is a risk of transmission by other intrusive triatomine species (Lima et al., 2012; Ribeiro et al., 2015). Therefore, strengthening the population participation in the notification of vectors in their households in regions vulnerable to infection is essential. This depends on permanent health education actions on the epidemiology of CD, focusing especially on the young population (Yevstigneyeva et al., 2014), seeking to reduce eventual underreporting of cases (Dias et al., 2016a).

According to other authors, vectorial transmission of *T. cruzi* is associated with household invasion by wild triatomines in several countries in the Americas (Waleckx et al., 2015). In the Yucatán Peninsula, Mexico, seasonal invasion of *Triatoma dimidiata* occurs, leading to active infection by *T. cruzi* in its inhabitants (Gamboa-León et al., 2014). In Colombia, the wild triatomine *Triatoma maculata* invades houses, transmitting *T. cruzi* to dogs and humans in a region with the occurrence of synanthropic animals infected by this protozoan, such as *Didelphis marsupialis* (Cantillo-Barraza et al., 2015). The population of the municipality of Apolo, Bolivia, complains of triatomine bites, with the wild species *Eratyrus mucronatus* being the most frequently found in the area (Depickère et al., 2012). Therefore, the presence in households of other triatomine species, previously of less epidemiological importance, infected with *T. cruzi*, represents an important risk of CD

reemergence in regions where the main vector species was controlled (Cantillo-Barraza et al., 2020; Carrasco et al., 2014; Waleckx et al., 2015).

In the study area - district of Santo Inácio, municipality of Gentio do Ouro (Bahia) - there are records of triatomine species *Triatoma sherlocki* (Papa et al., 2002), *Panstrongylus sherlocki* and *Panstrongylus lutzi* (Jurberg et al., 2001), and *Triatoma sordida* (Ribeiro et al., 2014). There are few reports on the latter two species in the region, with *P. sherlocki* being mentioned in a morphological characterization study, without data on *T. cruzi* infection (Jurberg et al., 2001), and *T. sordida* evaluated for the presence of different strains of *T. cruzi* (Ribeiro et al., 2014). *T. sherlocki* species is sylvatic and the most frequent in the region (Costa et al., 2014; Mendonça et al., 2009). Studies report *T. cruzi* infection in these triatomines (Almeida et al., 2009; Ribeiro et al., 2019). Birds were the most prevalent dietary pattern among the targets assessed for sylvatic populations of *T. sherlocki* (Ribeiro et al., 2019), but the high frequency of *T. cruzi* infection in this species suggests the involvement of wild mammals in maintaining the cycle transmission of the parasite.

The occurrence of *T. sherlocki* in households and its possible involvement with domestic animals and humans in the transmission cycle of *T. cruzi* causes concern in the region and constitutes a threat to public health (Almeida et al., 2009). Therefore, this study aims to characterize the vector role of triatomines found in the district of Santo Inácio (Bahia), to estimate the frequency of infection by *T. cruzi* in vectors, dogs, and humans, as well as describing characteristics of the households associated with the occurrence of these insects and evaluate the perception, knowledge and preventive practices adopted by the population regarding CD.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Study area and sample population

The study was carried out in the district of Santo Inácio (Fig. 1), belonging to the municipality of Gentio do Ouro (11°22'49.4"S 42°38'05.5"W), located in the northwest region of the state of Bahia, Brazil. It has an estimated population of 255 inhabitants, living in houses surrounded by large rocky-outcrops with significant fractures. Vegetation and fauna are characteristic of the Caatinga biome (semi-arid), which houses, among others,

Thrichomys sp. and *Kerodon rupestris*, wild mammals of frequent occurrence in the region and possibly involved as blood-meal sources for triatomines (Papa et al., 2002). The region has an average temperature of 25°C, and precipitation around 750 mm, with rains concentrated in the spring (September to December) and summer (December to March) (SEI-Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia, 2018).

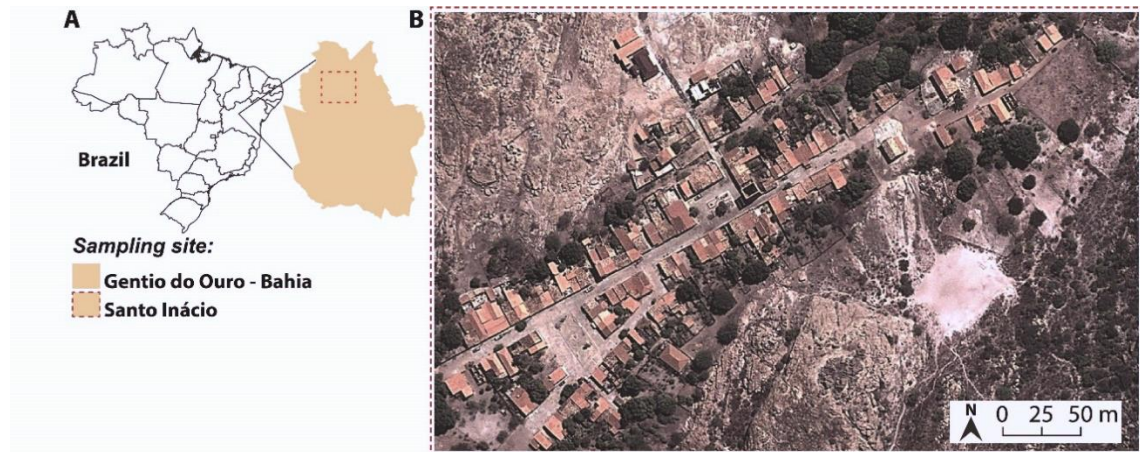


Fig. 1. Characterization of the sampling site. (A) Brazil, state of Bahia, municipality of Gentio do Ouro with the highlight on the district of Santo Inácio (QGIS 3.12). (B) Headquarters of the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, surrounded by rocky-outcrops (Google Earth®, 2020).

Between November 2018 and February 2019, visits were made to households in Santo Inácio to invite residents to volunteer in the study. Those who agreed to participate signed an Informed Consent Form. Volunteers were submitted to a questionnaire, blood sample collection, triatomines were captured in their houses and, after data collection, they were informed about the CD. Also, those who owned dogs had their animals sampled for blood. The study was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of West Bahia (protocol 2965700) and by the Ethics Committee for Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Zootecnics of the Federal University Bahia (protocol 75/2017).

2.2. Serological survey of *T. cruzi* in humans and dogs

Blood collection was carried out in the volunteers' households by a nursing technician on previously scheduled days. Five ml of blood were collected in aseptic conditions, with dry tubes. The samples were immediately refrigerated and transported to the Laboratory of the Multidisciplinary Center of the Campus de Barra (CMB) of the Federal

University of West Bahia (UFOB) for centrifugation and serum collection. Two ml serum aliquots were packed in microtubes and kept at -20°C, being sent to the Advanced Laboratory of Public Health (LASP) of the Gonçalo Moniz Institute (IGM, Fiocruz-BA) under refrigeration, subjected to two commercial indirect ELISA tests for detection of anti- *T. cruzi* antibodies: ELISA Chagas III (BIOSChile, Ingeniería Genética S. A, Santiago, Chile) and Gold ELISA Chagas (batch CHA132A; Rem, São Paulo, Brazil). All results were analyzed in duplicate, and the cutoff values were determined according to the manufacturers.

The consent for sampling the dogs was requested to the tutors through signing of an authorization term. Animals were submitted to physical restraint, clinical evaluation and demographic data collection. Blood samples were collected through the jugular or cephalic veins in aseptic conditions, with dry tubes, in a volume of 3 to 5 ml. They were immediately refrigerated and transported to the CMB/UFOB laboratory. After separation and storage at -20°C, the serum samples were sent to LASP (IGM, Fiocruz-BA). They were analyzed by the modified Gold ELISA Chagas commercial test (batch CHA132A; Rem, São Paulo, Brazil) and *in-house* ELISA, using four *T. cruzi* chimeric recombinant antigens (IBMP-8.1, IBMP-8.2, IBMP-8.3, and IBMP -8.4) according to Leony et al. (2019). Dogs were considered seropositive for *T. cruzi* when reactive in both tests. The samples were also tested for anti-*Leishmania* antibodies, using the protocol recommended by the Ministry of Health: rapid test DPP[®] and ELISA/EIE [Bio-Manguinhos/Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)]. Dogs were considered seropositive for *Leishmania* sp. when reactive in both tests.

2.3. Analysis of households and triatomines

The manual capture of triatomines in the households took place during the day, with the use of flashlights, gloves and tweezers, being carried out in all places of the house such as under the mattresses, behind furniture and in cracks that could house the vectors, in a clockwise direction. In the peridomicile, the search covered: the annexes, such as chicken coops and sheep corrals; accumulation of construction waste; piles of tiles and bricks; and places of garbage accumulation. The collected triatomines were placed in plastic tubes with a lid, allowing aeration and containing filter paper (Galvão, 2014). The triatomines capture activities in the domestic environment was executed by two people, with an average of 12.5 min/person/home. The research members also filled in a list of household characteristics

associated with triatomines, such as roof and wall type, and presence of annexes for raising animals.

The capture of triatomines in the wild took place at dusk, with the aid of flashlights and frequent checking of the surface of rocks that had fissures, hollows of tree trunks and rock burrows of small wild mammals (example *Thrichomys* sp. and *K. rupestris*). The triatomines were collected with tweezers and placed in plastic tubes with aeration. The capture activity involved three to four people per collection in the wild environment, with an average duration of two hours/person. The capture of triatomines was authorized by the Brazilian Environmental Agency (IBAMA/SISBIO protocol 61011-2).

The insects were sent to the CMB/UFOB laboratory for taxonomic identification by optical microscopy of the characters of the head, chest, and abdomen, according to the identification keys of Lent and Wygodzinsky (1979) and Galvão (2014). The insects were also classified into nymphs, males, and females. Entomological indicators were evaluated: (i) the natural infection index, which is the number of triatomines infected by *T. cruzi* divided by the total examined x 100; (ii) the infestation index, which is the number of positive households for triatomines divided by the households surveyed x 100; (iii) the colonization index, which is the number of households with nymphs divided by the number of households with triatomines x 100 and (iv) overall triatomine abundance, which is the number of triatomines captured in the households divided by the number of households surveyed.

2.4. Molecular diagnosis of mammalian hosts and triatomine

The samples obtained from triatomines, humans, and dogs were examined by conventional PCR and sequenced for detection and confirmation of *T. cruzi* at the Laboratory of Pathology and Molecular Biology (LPBM) of the Gonçalo Moniz Institute (IGM/Fiocruz-BA).

DNA extraction from triatomines was adapted from Ribeiro et al. (2019), using abdomen samples from each insect and the DNazol standard protocol. The purified DNA was eluted in 50 µl of the elution buffer. We used the commercial kit (PureLink Genomic DNA Mini Kit, Invitrogen®) to extract DNA from whole blood samples with EDTA anticoagulant (dogs and humans), following the manufacturer recommendations, and eluted in 30 µl of elution buffer. All DNA concentration of the samples was determined on a

NanoDrop™ spectrophotometer, being adjusted to ~100 ng/μl, and the samples were then stored at -80°C. The entire extraction process was carried out in a security booth, and the material used was sterilized to avoid contamination of the extracted DNA.

Conventional PCR aimed to amplify the histone H2A gene, corresponding to the 16-248 nucleotides of a sequence called SIRE (Pavia et al., 2007), a small interleaved repetitive element presents in *T. cruzi*. Primers TcH2AF (5' - GAGAGTGATCGTGGGAGAGC - 3') and TcH2AR (5' - AGTGGCAGACTTTGGGGTC - 3') were used, specific for *T. cruzi*, and which produce a 234 bp amplicon (Lilioso et al., 2020). In 25 μL volumes, PCR reactions were performed with 11 μl of the Qiagen PCR Master Mix commercial kit (QIAamp, Qiagen, Hilden, Germany), 0.5 μM of each primer, 2 μl of genomic DNA, and DNase free water until the volume is complete. The reaction was performed on the Mastercycler Gradient thermocycler (Eppendorf, Foster City, California, USA), with 94°C programming for 3 min, followed by 40 cycles of 94°C for 30 s, 55°C for 30 s and 72°C for 60 s, with a final extension of 72°C for 10 min.

The PCR products were stained with SYBR Safe solution (Invitrogen, CA, USA) and submitted to a horizontal electrophoretic run (Micro SSPTM Gel System, One Lambda, USA) in 1.5% agarose gel, in Tris borate EDTA buffer (TBE), together with the 100 bp molecular weight marker (Invitrogen, USA). The results were visualized on a blue light transilluminator and photographed with the MultiDocit Photodocumenter (UVP, Imaging Systems, Upland, CA, USA). The positive control was a triatomine sample positive for *T. cruzi* previously sequenced and with 99% identity with the sequence deposited in GenBank (CP015671.1) and the negative control was ultrapure water. PCR products were purified with a commercial QIAquick PCR Purification kit (Qiagen, Germany) and sent for bidirectional sequencing (Sanger et al., 1977).

2.5. Epidemiological questionnaire

The semi-structured epidemiological questionnaires had objective and subjective questions and were applied according to the profile of the interviewees: (i) addressed to the household provider (adult responsible for the home), containing questions about triatomines, CD, and demographic data (biological, socioeconomic, and cultural); and (ii) addressed to

other residents of the households, with questions about demographic data, being applied to individuals over ten years of age.

The interviews were conducted in the interviewees' households by four trained interviewers. The questions were asked without inducing the answer and without reading the alternatives. In cases where respondents were unable to answer, this option was checked in the questionnaire.

2.6. Data analysis and geoprocessing

Data from qualitative variables were categorized and their absolute and relative frequencies described. For each analysis, tables were created highlighting the outcome variables and the independent variables, namely: i) demographic and clinical data of the dogs that were associated with the outcome variable "Seropositivity for *T. cruzi* in dogs"; ii) data on the perception, knowledge and practices of providers that were associated with the outcome variable "Infestation rate of triatomines in households". In addition, "Structural and environmental characteristics of households" were associated with the outcome variable "Index of triatomine infestation in households". To analyze the association between the outcome variables and the independent variables, non-fitted model and multivariate analyses were performed using logistic regression. Prevalence ratios (PR) and 95% confidence intervals (95%CI) were estimated. The forward variable selection method was used to include the variables in the multiple model. The inclusion criterion was $p < 0.20$ in the fitted model analysis. The criterion for maintaining the variables in the final model was $p < 0.05$. Data analysis was performed using Stata[®]14 statistical software.

The map that determines the studied area's location was made using the software Qgis 3.12 and Adobe Illustrator CS6.

3. RESULTS

3.1. Demographic data, serological and molecular diagnosis in humans and dogs

In this study, 255 residents were recruited but only 126 individuals agreed to participate. The demographic data of the volunteers are shown in Supplementary Table 1.

All volunteers sampled were negative for *T. cruzi* in serological and molecular tests, which is equivalent to 49.5% (126/255) of the population in the district of Santo Inácio.

In the study area, 40 dog samples were collected. Demographic and clinical data of dogs are shown in Supplementary Table 2. 17.5% of the dogs sampled (7/40) were reactive for *T. cruzi* in both the Gold ELISA Chagas and *in-house* ELISA tests (chimeric antigens), and 7.5% (3/40) were reactive to both the DPP[®] and ELISA/EIE for anti-*Leishmania* sp. A single dog was seropositive for *T. cruzi* (Gold ELISA Chagas and *in-house* ELISA tests) and *Leishmania* sp. (rapid test DPP[®] and ELISA/EIE), suggesting possible co-infection by both pathogens. Of the dogs sampled, 75% (30/40) were male and 25% (10/40) female. 85.71% (6/7) of males and 14.29% (1/7) of females were seropositive for *T. cruzi*. In addition, dogs older than one year of age were the most seroreactive for *T. cruzi* (85.71%, 6/7). No dog was positive for *T. cruzi* by the PCR technique.

3.2. Analysis of triatomines

The 155 triatomines were captured in the following environments: inside houses (n = 4); peridomicile (n = 6); and wild environment (n = 145). The ten triatomines captured in households (n = 7) were of the following species: *Triatoma sherlocki* (n = 6), *Triatoma sordida* (n = 3), and *Panstrongylus sherlocki* sn *Panstrongylus lutzi* (n = 1). All specimens found in the wild (n = 145) were of the species *T. sherlocki* and most were captured on the surface of rock formations (n = 131). Only one colony was found in a rock burrow (n = 14). In this colony, all triatomines were engorged and 12 of them were positive for *T. cruzi*. Twenty-nine (18.7%) triatomines were positive for *T. cruzi* according to PCR testing (Table 1) and confirmed by sequencing.

Table 1 Natural infection index for *T. cruzi* in triatomines collected in the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brazil, from 2018 to 2019.

	<i>Triatoma sherlocki</i>					<i>Triatoma sordida</i>					<i>Panstrongylus sherlocki</i> sn <i>Panstrongylus lutzi</i>				
	F	M	N	P/A	I%	F	M	N	P/A	I%	F	M	N	P/A	I%
INTRA	1 ^a	1 ^a	1 ^b	0/3	0.0	1 ^a	0	0	0/1	0	0	0	0	0	0.0
PERI	2 ^c	0	1 ^d	1/3	33.3	0	0	2 ^{e,f}	0/2	0	0	1 ^g	0	1/1	100.0
WILD	21	24	100	27/145	18.6	0	0	0	0/0	0	0	0	0	0	0.0
TOTAL	24	25	102	28/151	18.5	1	0	2	0/3	0	0	1	0	1/1	100.0

F: female; M: male; N: nymph; P: positive triatomines; A: analyzed triatomines; I%: Natural Infection Index - the percentage of positive triatomines for *T. cruzi*; INTRA: inside the house; PERI: peridomicile; WILD: wild environment; ^a captured in the bathroom; ^b captured in the bedroom; ^c captured in the backyard; ^d captured on

the balcony; ^e captured in a pile of tiles in the backyard; ^f captured in the backyard where a *T. cruzi* seronegative dog was sleeping; ^g captured in the backyard where a *T. cruzi* seropositive dog was sleeping.

3.3. Analysis of households

Of the 106 existing households in the district of Santo Inácio, 48 were sampled (45%). Among the information about the infrastructure and organization of the households, it is noteworthy that the 94% (45/48) had ceramic roofs; 88% (42/48) masonry walls with plaster; 88% (42/48) peridomicile materials such as tiles and blocks, 60% (29/48) construction debris and 46% (22/48) accumulated garbage. Forty households (38%) were not inspected, as they were vacant, and in 18 households (17%) there was no permission from the resident.

In 34 households sampled, 351 domestic animals were registered, in the following proportions: 62% (217/351) chickens, 14% (50/351) sheep, 12% (43/351) dogs, 10% (36/351) cats, and 1% (5/351) birds. The presence of annexes for raising domestic animals was verified in 21% (10/48) of the households, of which nine were chicken coops, and one had a chicken coop and a sheep corral. Entomological indicators calculated resulted in an infestation index of ~15% (7/48), triatomine abundance of 0.2 (10/48) and colonization index of 57% (4/7). Fig. 2 shows some households characteristics and their proximity to the rocky-outcrops of the wild environment. Supplementary Table 3 shows the environmental conditions of households positive for triatomines.



Fig. 2. Characteristics of households and proximity to a wild environment of the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia. (A) Rocky-outcrops surrounding the dwellings and considered major ecotopes of *T. sherlocki*. (B) Peridomicile with rock formations serving as a shelter for a dog and triatomines. (C) Dog in the peridomicile, with accumulation of diverse materials in the background, serving as a hiding place for triatomines.

3.4. Epidemiological questionnaire

Of the 112 questionnaires applied, 42% (47/112) were answered by the household provider and 58% (65/112) by other residents. The questionnaire was not applied to one specific provider and thirteen other residents for various reasons beyond our control ($n = 14$). The results and frequencies of perception, knowledge, and practices about triatomines

and CD are presented in Table 2, and demographic data of the population are in Supplementary Table 1.

Table 2 Descriptive and statistical analysis of questionnaires on perception, knowledge, and practices in relation to triatomines and Chagas disease obtained from 47 providers and their association with the infestation index of triatomine in households in the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brazil, from 2018 to 2019.

Independent variables	n/N (%)	# Frequency (%)	PR (95% CI) Non-fitted Model	PR (95% CI) Fitted Model
Have you found triatomines at your house? (N = 47)				
No/Do not know	14 (29.79)	1/7 (14.29)	1	
Yes	33 (70.21)	6/7 (85.71)	3.21 (0.11-92.79)	
What place in the house did you find the triatomine? (N = 33)				
Peridomicile	3 (9.09)	1/6 (16.67)	*	
Inside house	22 (66.67)	3/6 (50.00)		
Both	8 (24.24)	2/6 (33.33)		
^a What did you do when you found the triatomine? (N = 33)				
Suitable destination	2 (6.06)	0	*	
Inappropriate destination	31 (93.94)	6/6 (100.00)		
What is the delivery location for the triatomine? (N = 47)				
Health Service (person or institution)	13 (27.66)	0	*	
^b Others/Do not know	34 (72.34)	7/7 (100.00)		
^c Which of the insects is a triatomine? (N = 47)				
Incorrectly pointed/Cannot answer	8 (17.02)	2/7 (28.57)	1	1
Correctly pointed	39 (82.98)	5/7 (71.43)	0.09 (0.00-1.39)**	0.23 (0.03-1.82)
Do you do anything to avoid the triatomine? (N = 47)				
No	36 (76.60)	6/7 (85.71)	1	
Yes	11 (23.40)	1/7 (14.29)	0.42 (0.02-7.67)	
Do triatomines cause any disease? (N = 47)				
No/Do not know	3 (6.38)	2/7 (28.57)	1	1
Yes	44 (93.62)	5/7 (71.43)	0.01 (0.00-0.74) **	0.04 (0.00-0.66)***
What disease does the triatomine cause? (N = 44)				
Chagas disease	36 (81.82)	5/5 (100.00)	*	
Others	8 (18.18)	0		
Which organ does Chagas disease affect? (N = 47)				
Others	10 (21.28)	1/7 (14.29)	1	
Heart	37 (78.72)	6/7 (85.71)	0.12 (0.00-4.91)	
Do you know someone who has Chagas disease? (N = 47)				
No/Do not know	24 (51.06)	3/7 (42.86)	1	
Yes	23 (48.94)	4/7 (57.14)	2.54 (0.18-34.23)	
Is Chagas disease curable? (N = 44)				
No/Do not know	21 (47.73)	6/7 (85.71)	*	
Yes	23 (52.17)	1/7 (14.29)		

Is there a Chagas disease control service in the region? (N = 45)

No/Do not know	38 (84.44)	6/7 (85.71)	1
Yes	7 (15.56)	1/7 (14.29)	0.82 (0.04-16.53)

The name “the kissing bug” was replaced in the text by triatomine; PR = Prevalence ratios; CI = confidence intervals # Frequency of triatomine infestation rate in households in relation to independent variables; * Not included in the non-fitted model due to lack of sufficient data to perform the analysis; ** Criterion used in the non-fitted model was p-value <0.20); *** The criterion for maintaining the variables in the fitted model was p<0.05; ^a Suitable destination (delivered to the university researcher) and Inappropriate destination (killed immediately/ threw in the garbage); ^b Do not know (n = 27), there is no location (n = 5), dumping ground (n = 2); ^c Showcase with the presence of three adult hemipteral insects (predator, phytophagous and *T. sherlocki*) was shown to the provider.

3.5. Data analysis

The fitted logistic regression model between "Provider perception, knowledge and practice data" and the "Triatomine infestation index in households" suggests that the fact that the provider has knowledge that the triatomine can cause CD may be configured as a factor of protection for it ($p = 0.04$). Thus, providers with this knowledge may adopt preventive measures to avoid contact with the triatomine (Table 2).

The non-fitted model of the analysis between "Demographic and clinical data of dogs" and "Seropositivity for *T. cruzi* in dogs" was not significant (Supplementary Table 2). Thus, a fitted model was not carried out. Therefore, the exploratory variables do not sufficiently explain the result of serology for *T. cruzi* in dogs in the studied population. The fitted logistic regression model between "Structural and environmental characteristics of households" and the "Infestation index of triatomines in households" was also not significant (Supplementary Table 3). Therefore, the exploratory variables do not sufficiently explain the rate of triatomine infestation in the sampled households. The two statistical analyses mentioned above were purposely not presented here (for more information see Supplemental Tables 2 and 3).

4. DISCUSSION

Three species of triatomines were identified, *T. sherlocki*, *T. sordida*, and *P. sherlocki*, occurring in different numbers in the researched environments, with 18.7% of the investigated triatomines being infected with *T. cruzi*. It was also observed the presence of seropositive dogs and all human samples were negative for *T. cruzi*.

Adults and nymphs of the *T. sherlocki* species were the most found in households, and the only ones detected in the wild environment. They were positive for *T. cruzi* in both environments. *T. sherlocki* is considered a species of the wild environment (Papa et al., 2002). However, it is believed that at some point, *T. sherlocki*, which cannot fly (Almeida et al., 2012), colonizes households through walking (Almeida et al., 2009), where it can lay its eggs, with the potential for colonization. The adaptability of the *T. sherlocki* species to the domestic environment was tested in the laboratory, being registered a complete development cycle (egg to adult), low mortality rate, high frequency of blood meal, and

resistance to hunger, which can make it possible to remain in households (Lima-Neiva et al., 2017). The infection rate of *T. sherlocki* in this study was 18.5%. Previous studies, also carried out in the district of Santo Inácio, such as Almeida et al. (2009) and Ribeiro et al. (2019), showed infection rates in *T. sherlocki* by *T. cruzi* of 11% and 43%, respectively. Demonstrating that the occurrence of the parasite infecting this species of triatomine is expected in the region, and imposes the need for entomological investigations on the possible colonization probabilities of this vector in households.

Species *T. sordida* and *P. sherlocki* were also captured in households, and the only adult specimen captured of the species *P. sherlocki* in the peridomicile was infected with *T. cruzi*. There is no previous record of infection by *T. cruzi* for this species in the literature consulted. Also, *P. sherlocki* behavioral and occurrence data are scarce (Jurberg et al., 2001), with *P. sherlocki* being considered a chromatic variation of the species *Panstrongylus lutzi* (Garcia et al., 2005). Although the species *T. sordida* is more frequent in the state of Bahia, mostly found in the peridomicile of households, with an infection rate for *T. cruzi* of 4% (Ribeiro et al., 2019), in the present study, few specimens of this species were captured inside households (n = 1; in the bathroom) and peridomicile (n = 2; in the backyard), the same being negative for *T. cruzi*. Species of the genus *Panstrongylus* occupy natural ecotopes associated with hosts (armadillo burrow, rocks with cavy, bird nests) and are found among large tree roots (Sousa et al., 2020), while the natural ecotope for *T. sordida* is the hollow trunk of trees and bird nests (Sousa et al., 2020). Although studies show the occurrence of *T. sordida* (Ribeiro et al., 2014) and *P. sherlocki* (Jurberg et al., 2001) in natural ecotopes of Santo Inácio, both triatomines were not captured in the wild during our study.

Even with a low rate of infestation and low density of triatomines in households, a significant number of the interviewed providers reported finding triatomines in their households (Table 2). Household places with the highest occurrence of insects were the living room (72%), the bedroom (39%), and the kitchen (30%). According to the interviewees, the backyard (n = 6) and chicken coop (n = 1) presented less occurrence of triatomines, perhaps due to the short time that people stay in these areas or, also, because insects find more hiding places in this type of environment. Detection of triatomines is generally low and may vary depending on insect abundance, ecotope characteristics, and capture method (Abad-Franch et al. 2014). We used the manual capture of triatomines as recommended by entomological surveillance as a method. However, capture in households

during the day, when the vector hides, where hiding places are diverse, and where the abundance of invasive triatomines is generally smaller, made it difficult to detect the insect. Therefore, we recommend that future studies in this district use dislodging insecticides in households and count on the participation of the residents to capture the insects. In the wild, the capture activity was carried out at night, when the insects are most active and in the natural ecotope of triatomines, allowing for greater capture of vectors (Table 1).

Household invasions and colonization by wild triatomines in Santo Inácio occur for several reasons. Some of them are: i) proximity of the rocky-outcrops to the households; ii) presence of shelters for triatomines [ex: peridomiciles with an accumulation of several materials], and annexes of domestic animals very close to the households; iii) the presence of several domestic animals; iv) artificial light attraction of insects and, finally, v) passive transport by domestic animals and human due to work activities, such as hunting and mining in the wild environment, being able to carry triatomines in their utensils (Almeida et al., 2009). Regarding phototropism, during the stay of the research team in this district, three adult specimens of *T. sherlocki* were found at night inside households, one of which was positive for *T. cruzi* (data not counted). These triatomines are attracted by artificial light (Sousa et al., 2020), which favors the nocturnal invasion of households.

The presence of domestic animals in households may be more attractive for triatomines to feed on than human presence (Daflon-Teixeira et al., 2019; Gürtler et al., 2007). Among the animals raised in the district, the presence of chickens stands out, which are the most accessible blood-meal sources for triatomines (Daflon-Teixeira et al., 2019; Ribeiro et al., 2015). Dogs come in second place, being considered a link in the circulation of *T. cruzi* between the wild and domestic environment (Porfirio et al., 2018). This fact was reinforced in the present study by registering 17% of dogs seropositive for *T. cruzi*.

Dogs generally develop the chronic form of CD, with no apparent clinical signs (Santana et al., 2012) with low parasitemia at this disease stage (Araújo et al., 2002). However, some naturally infected dogs may have detectable parasitemia, depending on the genotype of the parasite circulating in the region and the health status of the animals, as detected by xenodiagnosis, conventional PCR (Enriquez et al., 2013), and qPCR (Enriquez et al., 2014) in other countries (Gürtler and Cardinal, 2015). In this study, dogs infected with *T. cruzi* had a varied clinical picture, compatible with other diseases such as visceral leishmaniasis, making the clinical diagnosis of CD difficult. Only one dog showed

seropositivity for *Leishmania* sp. and *T. cruzi*, indicating coinfection. The diagnosis of these diseases in co-endemic regions is a challenge due to the possibility of cross-reaction (Leony et al., 2019; Porfirio et al., 2018), which was discarded in our study because we used two different serological techniques to detect both parasites. In addition, co-infected dogs remain parasitized for long periods, which represents a significant risk in the spread of these zoonoses (Cruz et al., 2020; Porfirio et al., 2018).

Most of the dogs sampled in this study are not used for hunting wild animals and are not fed game meat, even though game meat intake is cultural among people in the region. The two wild animal species most cited as a food source by the interviewees were the rock cavy [*K. rupestris* (87%)] and the armadillo [*Dasypodidae* (55%)], both being *T. cruzi* reservoirs (Jansen et al., 2020). It is assumed that, during the preparation of the game meat, the remains of these animals are given to the dogs. Two dogs seropositive for *T. cruzi* fed on wild animals, which suggests that oral transmission of the parasite could occur, as reported by Porfirio et al. (2018), who detected 76% of dogs in a rural community in the state of Mato Grosso do Sul infected with *T. cruzi*, 40% of which were fed with wild mammals.

All *T. cruzi* seropositive dogs slept in backyards. However, there was no association between the serological result and the variable "Where does the dog sleep?" (Supplementary Table 2), even knowing that the overnight stay of dogs in the peridomicile increases exposure to triatomines because of the more significant number of vectors in these places (Walter et al., 2005). We recorded an adult triatomine positive for *T. cruzi* living with a seropositive dog in the same peridomicile, and a negative nymph captured in the place where a seronegative dog slept. This scenario shows the severity of CD in this region, where triatomines and dogs share the same space (Fig. 2. B, C).

However, we did not find any PCR-positive dog for *T. cruzi*, which would confirm the infection in tested animals. Some points can be raised in this regard: i) the tested aliquot does not contain parasite DNA (*T. cruzi* is not present in the peripheral circulation of the animal); ii) the fact that the primer does not detect some *T. cruzi* strains (Barrera et al., 2008); and iii) the difference in the objectivity of serological tests in relation to molecular testing (antibodies/immunological memory x DNA/infection). The sensitivity of the PCR reaction using TcH2AF/TcH2AR primers was 0.1 ng DNA/ μ L, which was determined using *T. cruzi* positive control DNA in 10x serial dilutions, ruling out the possibility of negative results due to problems of PCR sensitivity. Regarding possible reaction inhibitors present in the DNA

sample, this problem was ruled out by satisfactorily amplifying all negative samples after adding 1.0 µl (50 ng) of parasite DNA (positive control) to them, following the methodology of Gil et al. (2007). The sensitivity of PCR with other *primers* (for example kinetoplast target) in naturally infected dogs ranged between 40-90% (Araújo-Neto et al., 2019; Enriquez et al., 2013; Porfirio et al., 2018). However, the study by Cantillo-Barraza et al. (2020) showed PCR negativity in *T. cruzi* seropositive dogs, even using more sensitive *primers* than those used here, which shows the importance of using different diagnostic tests to expand the possibilities of reactive and/or detecting the parasite (antibodies and/or DNA). The PCR test has high sensitivity and specificity to detect infected dogs (Araújo-Neto et al., 2019), being used as a complementary diagnosis to serology and allowing the detection of circulating *T. cruzi* lineages (DTUs TcI-TcVI) and other species of *Trypanosoma* (Malavazi et al., 2020; Porfirio et al., 2018).

Diverse studies deal with human seroprevalence of *T. cruzi* in several regions considered endemic for triatomines in Northeast Brazil (Aras et al., 2002; Borges-Pereira et al., 2006; Borges-Pereira et al., 2008; Brito et al., 2012; Lima et al., 2012; Santos et al., 2015). In the present study, all people tested negative for *T. cruzi*. According to Cerqueira et al. (1998), previous studies carried out in 1975 and 1995, in this same study area, registered 3% and 4% of seropositivity for *T. cruzi*, respectively. The low prevalence of people infected in these two periods was attributed to better conditions in the infrastructure of households, not being attractive for colonization of triatomines, and preservation of the wild environment (Cerqueira et al., 1998). These conditions were also observed, which may have contributed to the absence of human cases of *T. cruzi* infection in the present study. Furthermore, this seronegativity may be associated with the significant elimination of *Triatoma infestans* in the 1990s through the frequent application of insecticides in households, which reduced the occurrence of new cases of CD in several regions of Brazil (Dias, 2016b).

The species *T. sherlocki* is known and called by the population of Santo Inácio as “bicudo”, and it is a vector of the CD protozoan (Almeida et al., 2009), which was identified in the hemipteral insects showcase by 83% of the providers. The correct identification of triatomines by the population allows the notification of these insects to the government agencies responsible for disease control and prevention programs (Dias et al., 2016a). However, there was a lack of information from the population regarding the correct

procedure for capturing and disposing of triatomines captured in their households, with most providers immediately killing the insect when they found it and 57% of providers not knowing where to forward them. Similar results have also been reported in other studies (Dias et al., 2016a; Rosecrans et al., 2014).

To avoid triatomines in their households, 77% of providers use some preventive measures. Of these, 50% are insecticide spraying and 42% seek to improve hygiene aspects to avoid an accumulation of garbage and materials (data not shown). These precautions are also the most cited in other studies (Rosecrans et al., 2014; Urioste-Stone et al., 2015). Spraying households with insecticides was suggested by 31% of providers to improve the region's CD control service. However, for this to happen, the resident needs to notify entomological surveillance of the occurrence of triatomines in their household (Dias et al., 2016b), which does not happen in this population as previously reported, even though they have a health post in the district that receives the insects and sends them to the responsible sector.

In the present study, most individuals used a mosquito net attached to the mattress to sleep (Supplementary Table 1). This palliative action protects people from the blood meal of triatomines when they are sleeping. However, 37% of people reported having been bitten by insects, 29% with a sting frequency greater than ten times (data not shown), demonstrating that this occurs when individuals are awake, thus being able to protect themselves from insects. In general, the questionnaire analysis revealed several gaps in respondent knowledge about CD and about the set of practices associated with reducing exposure to triatomines. However, logistic regression analysis showed a protective factor for providers who know that triatomines "cause" CD, as they avoid favorable conditions for invasion and colonization of these insects in their homes (Table 2). Thus, the questionnaire can help to produce educational materials that reinforce aspects still deficient about CD in this population.

The epidemiological scenario revealed is worrying and also occurs in other regions of Brazil (Araújo-Neto et al., 2019; Lima et al., 2012; Sangenis et al., 2015) and in other countries in the Americas (Waleckx et al., 2015), with the aggravation of detecting active cases of *T. cruzi* in humans in the context of invasions by the triatomines *Triatoma vitticeps*, *Triatoma maculata*, *Triatoma dimidiata* and *Eratyrys mucronatus* in Brazil (Sangenis et al., 2015), in Colombia (Cantillo -Barraza et al., 2015), in Mexico (Gamboa-León et al. 2014)

and in Bolivia (Depickère et al., 2012), respectively. These studies generally show that people have socioeconomic and cultural characteristics that favor the invasion of these insects in their houses (Daflon-Teixeira et al., 2019). In Bolivia, for example, the population of the municipality of Apolo has the habit of building walls with clay to delimit the peridomicile of their dwellings, an ideal hiding place for triatomines (Depickère et al., 2012). While in a certain region of Colombia, the transmission of *T. cruzi* to humans and dogs is related to the occurrence of synanthropic animals such as *Didelphis marsupialis* (Cantillo-Barraza et al., 2015) that finds shelters in the peridomicile of households. Thus, the control of transmission of *T. cruzi*, in the current scenario, must be analyzed from a holistic perspective, engaging the residents of these regions in the recognition and notification of triatomines (Rosecrans et al., 2014; Yevstigejeva et al., 2014), as well as the use of prevention and control methods for these insects inside residents households (Urioste-Stone et al., 2015).

5. CONCLUSION

Based on previous reports and the detection of anti-*T. cruzi* antibodies in dogs and *T. cruzi* infection in specimens of *T. sherlocki* collected in the wild and domestic environment, the presence of the etiological agent of CD in the district of Santo Inácio is verified. Although uncommon in the studied area, the species *T. sordida* and *P. sherlocki* can contribute to the maintenance of the *T. cruzi* transmission cycle. We also report the first record of the infection of *P. sherlocki* by *T. cruzi*. Though limited, the knowledge about CD and the adoption of some preventive measures against the vector practiced by a portion of the population seems to have contributed temporarily to prevent the transmission of *T. cruzi* to humans. However, the data reveal a latent risk of infection and spread of CD in the population studied. The epidemiological scenario observed has already been reported in other regions of Brazil and in other countries with similar characteristics. This situation can only be overcome with frequent actions of entomological surveillance, active search for cases, and the inclusion of health education content in school materials, with further dissemination of these contents to the general population.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Iara Cristina dos Santos Faria, a health agent in the district of Santo Inácio, for the support in conducting the activities and the volunteers and dog tutors for their consent for data collection and biological samples. We also thank Katia Cecilia de Lima, a clinical analysis technician, and the team of students who helped with field collection activities: Alini Dias de Pauda, Marcondes Pessoa de Freitas, Maurício dos Santos Conceição, and Rizia Alves Pereira.

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary Table 1 Descriptive analysis of demographic data of residents of the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brazil, in the period 2018 to 2019.

Variables	n/112* (%)
Sex	
Men	44 (39.29)
Women	68 (60.71)
^a Age	
≤18 years-old	17 (15.8)
>18≤29 years-old	18 (16.07)
>29≤45 years-old	23 (20.54)
>45≤65 years-old	35 (31.25)
>65 years-old	19 (16.96)
Self-reported race/color	
Black	27 (24.11)
Brown	62 (55.36)
Others	21 (18.75)
Do not know	2 (1.79)
Education	
^b Illiterate and incomplete basic level	39 (34.82)
Complete basic level and incomplete elementary school	24 (21.43)
Complete elementary school and incomplete university graduation	30 (26.79)
Complete university graduation	17 (15.18)
Does not know	2 (1.79)
Do you have a health complaint?	
No	66 (58.93)
Yes	46 (41.07)
Did you have a blood transfusion?	
No	104 (92.86)
Yes	8 (7.14)
Are you in the habit of eating açai and/or drinking sugarcane juice?	
No	87 (77.68)
Yes	25 (22.32)
Do you eat game meat?	
No	37 (33.04)
Yes	75 (66.96)
Have you ever been stung by triatomines?	
No	57 (50.89)
Yes	41 (36.61)

Does not know	14 (12.50)
Do you use mosquito net?	
No	18 (16.07)
Yes	94 (83.93)

*Information is missing from one provider and thirteen residents (n = 14), because the questionnaire was not applied. ^a Age ranged from 10 to 96 years-old, with an average of 45 years-old and 85% of respondents over 19 years-old; ^b 9% (10/112) of the respondents were illiterate.

Supplementary Table 2 Descriptive and statistical analysis of the demographic and clinical data of 40 dogs and their association with seropositivity for *T. cruzi* in the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brazil in 2019.

Independent variables	n/40 (%)	# Frequency (%)	PR (95% CI) Non-fitted Model
Sex			
Female	10 (25.00)	1/7 (14.29)	1
Male	30 (75.00)	6/7 (85.71)	0.51 (0.00-39.64)
Age			
≤5 years-old	29 (72.50)	3/7 (42.86)	1
>5 years-old	10 (25.00)	3/7 (42.86)	3.95 (0.27-57.38)
Does not know	1 (2.50)	1/7 (14.29)	-
Breed			
Undefined race	38 (95.00)	7/7 (100.00)	*
Others	2 (5.00)	0	
Is the dog a hunter?			
No	34 (85.00)	6/7 (85.71)	1
Yes	6 (15.00)	1/7 (14.29)	0.60 (0.02-16.89)
Is the dog fed with game meat?			
No	29 (72.50)	5/7 (71.43)	1
Yes	11 (27.50)	2/7 (28.57)	0.56 (0.03-8.41)
Where does the dog sleep?			
Inside house	3 (7.50)	0	*
Backyard	37 (92.50)	7/7 (100.00)	
Anemic mucous membranes			
No	28 (70.00)	5/7 (71.43)	1
Yes	12 (30.00)	2/7 (28.57)	0.68 (0.04-10.12)
Cardiac arrhythmia			
No	33 (82.50)	7/7 (100.00)	*
Yes	7 (17.50)	0	
Crusts on the ears			
No	24 (60.00)	4/7 (57.14)	1
Yes	16 (40.00)	3/7 (42.86)	2.99 (0.07-124.86)
Hyperkeratosis of the snout			
No	31 (77.50)	6/7 (85.71)	1
Yes	9 (22.50)	1/7 (14.29)	0.51 (0.04-5.97)
Alopecia			
No	26 (65.00)	3/7 (42.86)	1
Yes	14 (35.00)	4/7 (57.14)	2.28 (0.24-21.41)
Lymphadenomegaly			
No	10 (25.00)	0	*
Yes	30 (75.00)	7/7 (100.00)	
Splenomegaly			
No	36 (90.00)	6/7 (85.71)	1
Yes	4 (10.00)	1/7 (14.29)	2.56 (0.11-55.33)
Onychogryphosis			
No	32 (80.00)	5/7 (71.43)	1
Yes	8 (20.00)	2/7 (28.57)	1.26 (0.08-19.04)
Tick			

No	1 (2.50)	0	*
Yes	39 (97.50)	7/7 (100.00)	
Outcome variable: Serology for <i>T. cruzi</i>			
Negative	33 (82.50)		
Positive	7 (17.50)		

#Frequency of seropositive dogs for *T. cruzi* in relation to independent variables); PR = Prevalence ratios; CI = confidence intervals; * Not included in the non-fitted model due to lack of sufficient data to perform the statistical analysis ($p < 0.20$).

Supplementary Table 3 Descriptive and statistical analysis of the structural and environmental characteristics of the 48 households and their association with the rate of triatomine infestation in households in the district of Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brazil, in the period 2018 to 2019.

Independent variables	n/48 (%)	# Frequency (%)	PR (95% CI) Non-fitted Model	PR (95% CI) Fitted Model
Roof tiles				
Ceramic	45 (93.75)	6/7 (85.71)	1	
Others	3 (6.25)	1/7 (14.29)	29.32 (0.51-1683.04)**	***
Walls				
Masonry with plaster	42 (87.50)	7/7 (100.00)	*	
Masonry without plaster	5 (10.42)	0		
Clay without plaster	1 (2.08)	0		
Construction debris in the peridomicile				
No	19 (39.58)	4/7 (57.14)	1	1
Yes	29 (60.42)	3/7 (42.86)	0.11 (0.01-1.24)**	0.18 (0.02-1.39)
Piles of tiles and bricks in the peridomicile				
No	6 (12.50)	1/7 (14.29)	1	
Yes	42 (87.50)	6/7 (85.71)	1.91 (0.10-33.41)	
Garbage accumulation				
No	26 (54.17)	2/7 (28.57)	1	1
Yes	22 (45.83)	5/7 (71.43)	28.98 (1.21-694.11)**	6.49 (0.81-51.65)
Annexes for domestic animals				
No	38 (79.17)	6/7 (85.71)	*	
Yes	10 (20.83)	1/7 (14.29)		
Presence of dogs				
No	25 (52.08)	2/7 (28.57)	1	1
Yes	23 (47.92)	5/7 (71.43)	4.66 (0.49-44.30) **	4.62 (0.63-33.39)
Presence of cats				
No	41 (85.42)	6/7 (85.71)	1	
Yes	7 (14.58)	1/7 (14.29)	1.55 (0.09-25.14)	
Presence of chickens				
No	37 (77.08)	5/7 (71.43)	1	
Yes	11 (22.92)	2/7 (28.57)	4.58 (0.38-54.21)	
Outcome variable: Households with triatomine capture				
No	41 (85.42)			
Yes	7 (14.58)			

Frequency of triatomine infestation rate in households in relation to independent variables; PR = Prevalence ratios; CI = confidence intervals; * Not included in the non-fitted model due to lack of sufficient data and/or collinear variable with other variables to perform the analysis; ** Criterion used in the non-fitted model was p -value < 0.20 ; *** Removed from the fitted model as it is a confounding variable that modifies the effect of the other variables; The criterion for maintaining the variables in the fitted model was $p < 0.05$.

REFERENCES

- Abad-Franch, F., Valença-Barbosa, C., Sarquis, O., Lima, M.M., 2014. All that glisters is not gold: sampling-process uncertainty in disease-vector surveys with false-negative and false-positive detections. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003187>.
- Almeida, C.E., Oliveira, H.L., Correia, N., Dornak, L.L., Gumiel, M., Neiva, V.L., Harry, M., Mendonça, V.J., Costa, J., Galvão, C., 2012. Dispersion capacity of *Triatoma sherlocki*, *Triatoma juazeirensis* and laboratory-bred hybrids. *Acta Trop.* 122, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.12.001>.
- Almeida, C.E., Folly-Ramos, E., Peterson, A.T., Neiva-Lima, V., Gumiel, M., Duarte, R., Lima, M.M., Locks, M., Beltrão, M., Costa, J., 2009. Could the bug *Triatoma sherlocki* be vectoring chagas disease in small mining communities in Bahia, Brazil? *Med. Vet. Entomol.* 23, 410–417. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2009.00822.x>.
- Araújo, F.M.G., Bahia, M.T., Magalhães, N.M., Martins-Filho, O.A., Veloso, V.M., Carneiro, C.M., Tafuri, W.L., Lana, M., 2002. Follow-up of experimental chronic Chagas' disease in dogs: use of polymerase chain reaction (PCR) compared with parasitological and serological methods. *Acta Trop.* 81, 21–31. [https://doi.org/10.1016/s0001-706x\(01\)00196-6](https://doi.org/10.1016/s0001-706x(01)00196-6).
- Araújo-Neto, V.T., Honorato, N.R.M., Santana, R.O., Barbosa-Silva, A.N., Guedes, P.M. M., Chiari, E., Galvão, L.M.C., Cãmara, A.C.J., 2019. *Trypanosoma cruzi* circulating among dogs and triatomines in the endemic countryside of the State of Rio Grande do Norte, Brazil. *Acta Trop.* 200, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105067>.
- Aras, R., Veiga, M., Gomes, I., Mota, G., Rodrigues, B., Rabelo, R., Guzman-Bracho, C., Melo, A., 2002. Prevalence of chagas' disease in mulungu do Morro Northeastern Brazil. *Arq. Bras. Cardiol.* 78, 441–443. <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2002000500001>.
- Barrera, Y.K., Guevara, J.M., Pavía, P.X., Montilla, M., Nicholls, R.S., Parra, E., Puerta, C. J., 2008. Evaluación de las pruebas de PCR TcH2AF-R y S35-S36 para la detección de *Trypanosoma cruzi* en tejido cardíaco de ratón. *Biomédica* 28, 616–626. <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/68/68>.
- Borges-Pereira, J., Castro, J.A.F., Silva, A.G., Zauza, P.L., Bulhões, T.P., Gonçalves, M.E., Almeida, E.S., Salmito, M.A., Pereira, L.R.M., Filho, F.I.A., Correia-Lima, F.G., Coura, J.R., 2006. Soroprevalência da infecção chagásica no Estado do Piauí, 2002. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 39, 530–539. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822006000600004>.
- Borges-Pereira, J., Sarquis, O., Zauza, P.L., Britto, C., Lima, M.M., 2008. Epidemiologia da doença de Chagas em quatro localidades rurais de Jaguaruana, Estado do Ceará. Soroprevalência da infecção, parasitemia e aspectos clínicos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 41, 345–351. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822008000400005>.

- Brito, C.R.N., Sampaio, G.H.F., Câmara, A.C.J., Nunes, D.F., Azevedo, P.R.M., Chiari, E., Galvão, L.M.C., 2012. Seroepidemiology of *Trypanosoma cruzi* infection in the semiarid rural zone of the State of Rio Grande do Norte, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 45, 346–352. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822012000300013>.
- Cantillo-Barraza, O., Garcés, E., Gómez-Palacio, A., Cortés, L.A., Pereira, A., Marcet, P.L., Jansen, A.M., Triana-Chávez, O., 2015. Eco-epidemiological study of an endemic Chagas disease region in northern Colombia reveals the importance of *Triatoma maculata* (hemiptera: reduviidae), dogs and *Didelphis marsupialis* in *Trypanosoma cruzi* maintenance. *Parasites Vectors* 8, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1100-2>.
- Cantillo-Barraza, O., Medina, M., Zuluaga, S., Valverde, C., Motta, C., Ladino, A., Osorio, M.I., Jaimes-Duenez, J., Triana-Chavez, O., 2020. Eco-epidemiological study reveals the importance of *Triatoma dimidiata* in the *Trypanosoma cruzi* transmission, in a municipality certified without transmission by *Rhodnius prolixus* in Colombia. *Acta Trop.* 209, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105550>.
- Carrasco, H.J., Segovia, M., Londoño, J.C., Ortegoza, J., Rodríguez, M., Martínez, C.E., 2014. *Panstrongylus geniculatus* and four other species of triatomine bug involved in the *Trypanosoma cruzi* enzootic cycle: high risk factors for Chagas' disease transmission in the Metropolitan District of Caracas, Venezuela. *Parasites Vectors* 7, 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0602-7>.
- Cerqueira, R.L., Kawarabayashi, M., Guimarães, A.C., Nakamura, P.M., Ferraz, S.N., Pinto, P.L., Andrade, H.F., 1998. Santo Inácio revisited: protozoan diseases in an isolated village in northeastern Brazil after twenty years. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 59, 736–740. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1998.59.736>.
- Costa, J., Dornak, L.L., Almeida, C.E., Peterson, A.T., 2014. Distributional potential of the *Triatoma brasiliensis* species complex at present and under scenarios of future climate conditions. *Parasites & Vectors* 7, 1–15. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-238>.
- Cruz, A.C.F.G., Santos, N.A.F., Jeraldo, V.L.S., Madi, R.R., Rosa, J.A., Melo, C.M., 2020. Shelter dogs as indicators for *Trypanosoma cruzi* infection in an urban area of Aracaju, Brazil. *Acta Trop.* 210, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105577>.
- Daflon-Teixeira, N.F., Coutinho, C., Gomes, T.F., Toma, H.K., Duarte, R., Bóia, M.N., Carvalho-Costa, F.A., Almeida, C.E., Lima, M.M., 2019. Multiple approaches to address potential risk factors of chagas disease transmission in northeastern Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 100, 296–302. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0480>.
- Depickère, S., Durán, P., López, R., Martínez, E., Chávez, T., 2012. After five years of chemical control: colonies of the triatomine *Eratyrus mucronatus* are still present in Bolivia. *Acta Trop.* 123, 234–238. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.05.005>.
- Dias, J.V.L., Queiroz, D.R.M., Diotaiuti, L., Pires, H.H.R., 2016a. Conhecimentos sobre triatomíneos e sobre a doença de Chagas em localidades com diferentes níveis de infestação vetorial. *Ciênc. Saúde Coletiva* 21, 2293–2303. <https://doi.org/10.1590/1413-81232015217.07792015>.

Dias, J.C.P., Ramos, A.N., Gontijo, E.D., Luquetti, A., Shikanai-Yasuda, M.A., Coura, J.R., Torres, R.M., Melo, J.R.C., Almeida, E.A., Oliveira, W., Silveira, A.C., Rezende, J.M., Pinto, F.S., Ferreira, A.W., Rassi, A., Fragata-Filho, A.A., Sousa, A.S., Correia-Filho, D., Jansen, A.M., Andrade, G.M.Q., Britto, C.F.P.C., Pinto, A.Y.N., Rassi, A., Campos, D.E., Abad-Franch, F., Santos, S.E., Chiari, E., Hasslocher-Moreno, A.M., Moreira, E.F., Marques, D.S.O., Silva, E.L., Marin-Neto, J.A., Galvão, L.M.C., Xavier, S.S., Valente, S.A.S., Carvalho, N.B., Cardoso, A.V., Silva, R.A., Costa, V.M., Vivaldini, S.M., Oliveira, S.M., Valente, V.C., Lima, M.M., Alves, R.V., 2016b. II Consenso Brasileiro em doença de Chagas, 2015. *Epidemiol. Serv. Saúde* 25, 7–86. <https://www.scielo.br/j/ress/a/JrVJ3sYXSCYbvZdh8cH4Dqy/?lang=pt>.

Enriquez, G.F., Cardinal, M.V., Orozco, M.M., Schijman, A.G., Gürtler, R.E., 2013. Detection of *Trypanosoma cruzi* infection in naturally infected dogs and cats using serological, parasitological and molecular methods. *Acta Trop.* 126, 211–217. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.03.001>.

Enriquez, G.F., Bua, J., Orozco, M.M., Wirth, S., Schijman, A.G., Gürtler, R.E., Cardinal, M.V., 2014. High levels of *Trypanosoma cruzi* DNA determined by qPCR and infectiousness to *Triatoma infestans* support dogs and cats are major sources of parasites for domestic transmission. *Infect. Genet. Evol.* 25, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.04.002>.

Galvão, C., org. 2014. Vetores da doença de chagas no Brasil [online]. Curitiba/PR: Sociedade Brasileira de Zoologia, 289p. Série Zoologia: guias e manuais de identificação. ISBN 978-85-98203-09-6. Available from SciELO Books URL:<http://books.scielo.org/id/mw58j>. <https://doi.org/10.7476/9788598203096> (accessed 11 February 2020).

Gamboa-León, R., Ramirez-Gonzalez, C., Pacheco-Tucuch, F.S., O’Shea, M., Rosecrans, K., Pippitt, J., Dumonteil, E., Buekens, P., 2014. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* among mothers and children in rural Mayan communities and associated reproductive outcomes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 91, 348–353. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0527>.

Garcia, M.H.H.M., Souza, L., Souza, R.C.M., Paula, A.S., Borges, E.C., Barbosa, S.E., Schoffield, C.J., Diotaiuti, L., 2005. Occurrence and variability of *Panstrongylus lutzi* in the state of Ceará, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 38, 410–441. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822005000500010>.

Gil, J., Pavía, P., Montilla, M., Florez, A.C., Quintero, C., Mercado, M., Vacca, M., Nicholls, S., Puerta, C., 2007. Comparación de una prueba de PCR basada en los genes codificantes para la histona H2A/SIRE con pruebas serológicas convencionales para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica em pacientes colombianos. *Biomédica* 27, 83–91. <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/251/235>.

Gürtler, R.E., Cecere, M.C., Lauricella, M.A., Cardinal, M.V., Kitron, U., Cohen, J.E., 2007. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Parasitology* 134, 69–82. <https://doi.org/10.1017/S0031182006001259>.

Gürtler, R.E., Cardinal, M.V., 2015. Reservoir host competence and the role of domestic and commensal hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi*. *Acta Trop.* 151, 32–50. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.05.029>.

Jansen, A.M., Xavier, S.C.C., Roque, A.L.R., 2020. Landmarks of the knowledge and *Trypanosoma cruzi* biology in the wild environment. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 10, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00010>.

Jurberg, J., Carvalho, R.U., Lent, H., 2001. *Panstrongylus sherlocki* sp.n. do estado da Bahia, Brasil (hemiptera, reduviidae, triatominae). *Entomol. Vectores* 8, 261–274.
Lent, H., Wygodzinsky, P., 1979. Revision of the triatominae (hemiptera, reduviidae) and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 163, 123–520. <http://digitallibrary.amnh.org/handle/2246/1282> (accessed 25 February 2020).

Leony, L.M., Freitas, N.E.M., Del-Rei, R.P., Carneiro, C.M., Reis, A.B., Jansen, A.M., Xavier, S.C.C., Gomes, Y.M., Silva, E.D., Reis, M.G., Fraga, D.B.M., Celedon, P.A.F., Zanchin, N.I.T., Dantas-Torres, F., Santos, F.L.N., 2019. Performance of recombinant chimeric proteins in the serological diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 26, 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007545>.

Lilioso, M., Reigada, C., Pires-Silva, D., Fontes, F.H.M., Limeira, C., Monsalve-Lara, J., Folly-Ramos, E., Harry, M., Costa, J., Almeida, C.E., 2020. Dynamics of food sources, ecotypic distribution and *Trypanosoma cruzi* infection in *Triatoma brasiliensis* from the northeast of Brazil. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 28, 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008735>.

Lima, M.M., Sarquis, O., Oliveira, T.G., Gomes, T.F., Coutinho, C., Daflon-Teixeira, N.F., Toma, H.K., Britto, C., Teixeira, B.R., D'andrea, P.S., Jansen, A.M., Bóia, M.N., Carvalho-Costa, F.A., 2012. Investigation of Chagas disease in four periurban areas in northeastern Brazil: epidemiologic survey in man, vectors, non-human hosts and reservoirs. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 106, 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2011.10.013>.

Lima-Neiva, V., Gonçalves, T.C.M., Bastos, L.S., Gumiel, M., Correia, N.C., Silva, C.C., Almeida, C.E., Costa, J., 2017. Biology of *Triatoma sherlocki* (hemiptera: reduviidae) under laboratory conditions: biological cycle and resistance to starvation. *J. Med. Entomol.* 54, 831–836. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw249>.

Malavazi, P.F.N.S., Daudt, C., Melchior, L.A.K., Meneguetti, D.U.O., Xavier, S.C.C., Jansen, A.M., Souza, S.F., Roque, A.L.R., 2020. Trypanosomes of vectors and domestic dogs in *Trypanosoma cruzi* transmission areas from Brazilian southwestern amazon: new mammalian host for *Trypanosoma janseni*. *Acta Trop.* 210, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105504>.

Mendonça, V.J., Silva, M.T.A., Araújo, R.F., Martins-Júnior, J., Baccii-Júnior, M., Almeida, C.E., Costa, J., Graminha, M.A.S., Cicarelli, R.M.B., Rosa, J.A., 2009. Phylogeny of *Triatoma sherlocki* (hemiptera: reduviidae: triatominae) inferred from two

mitochondrial genes suggests its location within the *Triatoma brasiliensis* complex. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 81, 858–864. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2009.08-0664>.

Papa, A.R., Jurberg, J., Carcavallo, R.U., Cerqueira, R.L., Barata, J.M.S., 2002. *Triatoma sherlocki* sp. n. coletada na Bahia, Brasil (hemiptera, reduviidae, triatominae). *Entomol. Vectores* 9, 133–146.

Pavia, P.X., Vallejo, G.A., Montilla, M., Nicholls, R.S., Puerta, C.J., 2007. Detection of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* infection in triatomine vectors by amplification of the histone H2A/SIRE and the SNO-RNA-C11 genes. *Rev. Inst. Med. Trop.* 49, 23–30. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652007000100005>.

Porfirio, G.E.O., Santos, F.M., Macedo, G.C., Barreto, W.T.G., Campos, J.B.V., Meyers, A. C., Abdré, M.R., Perles, L., Oliveira, C.E., Xavier, S.C.C., Andrade, G.B., Jansen, A.M., Herrera, H.M., 2018. Maintenance of *Trypanosoma cruzi*, *T. evansi* and *Leishmania* spp. by domestic dogs and wild mammals in a rural settlement in Brazil-Bolivian border. *Parasites Wildl* 7, 398–404. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2018.10.004>.

Ribeiro, A.R., Mendonça, V.J., Alves, R.T., Martinez, I., Araújo, R.F., Mello, F., Rosa, J.A., 2014. *Trypanosoma cruzi* strains from triatomine collected in Bahia and Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev. Saúde Pública* 48, 295–302. <https://doi.org/10.1590/S0034-8910.2014048004719>.

Ribeiro Jr., G., Gurgel-Goncalves, R., Reis, R.B., Santos, C.G.S., Amorim, A., Andrade, S. G., Reis, M.G., 2015. Frequent house invasion of *Trypanosoma cruzi*-infected triatomines in a suburban area of Brazil. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9, 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003678>.

Ribeiro Jr., G., Santos, C.G.S., Lanza, F., Reis, J., Vaccarezza, F., Diniz, C., Miranda, D.L. P., Araújo, R.F., Cunha, G.M., Carvalho, C.M.M., Fonseca, E.O.L., Santos, R.F., Sousa, O.M.F., Reis, R.B., Araújo, W.N., Gonçalves-Gurgel, R., Reis, M.G., 2019. Wide distribution of *Trypanosoma cruzi*-infected triatomines in the State of Bahia, Brazil. *Parasites Vectors* 12, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3849-1>.

Rosecrans, K., Cruz-Martin, G., King, A., Dumonteil, E., 2014. Opportunities for Improved Chagas disease vector control based on knowledge, attitudes and practices of communities in the Yucatan Peninsula, Mexico. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002763>.

Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74, 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>.

Sangenis, L.H.C., Saraiva, R.M, Georg, I., Castro, L., Lima, V.S., Roque, A.L.R., Xavier, S. C.C., Santos, L.C., Fernandes, F.A., Sarquis, O., Lima, M.M., Carvalho-Costa, F.A., Bóia, M.N., 2015. Autochthonous transmission of Chagas disease in Rio de Janeiro State, Brazil: a clinical and eco-epidemiological study. *BMC Infect. Dis.* 15, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12879-014-0732-8>.

Santana, V.L., Souza, A.P., Lima, D.A.S.D., Araújo, A.L., Justiniano, S.V., Dantas, R.P., Guedes, P.M.M., Melo, M.A., 2012. Caracterização clínica e laboratorial de cães naturalmente infectados com *Trypanosoma cruzi* no semiárido nordestino. *Pesqui. Vet. Bras.* 32, 536–541. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012000600011>.

Santos, F.L.N., Lorena, V.M.B., Souza, W.V., Gomes, Y.M., 2015. Spatiotemporal analysis of reported cases of acute Chagas disease in the State of Pernambuco, Brazil, from 2002 to 2013. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 48, 181–187. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0312-2014>.

SEI-Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia, 2018. Perfil dos Territórios de Identidade da Bahia: Semiárido Nordeste II, Itaparica, Sertão do São Francisco, Piemonte Norte do Itapicuru, Piemonte da Diamantina, Irecê, Velho Chico, Bacia do Rio Grande, Bacia do Rio Corrente. Salvador/BA: SEI, 3v., 2018, 252 p. Série territórios de identidade da Bahia. ISBN 978-85-8121-017-9. https://www.sei.ba.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=2000&Itemid=284 (accessed 10 August 2020).

Sousa, O.M.F., Santos, C.G.S., Santos, R.F., Fonseca, E.O.L., Lima, A.G. D., orgs. 2020. Triatomíneos da Bahia: manual de identificação e orientações para o serviço. 1. ed. Salvador/BA: Oxente, 208p. ISBN 978-65-5100-007-2. E-book. <http://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2020/04/Livro-triatom%C3%ADneos-da-Bahia-E-BOOK.pdf> (accessed 28 August 2020).

Vinhaes, M.C., Oliveira, S.V., Reis, P.O., Sousa, A.C.L., Silva, R.A., Obara, M.T., Bezerra, C.M., Costa, V.M., Alves, R.V., Gurgel-Goncalves, R., 2014. Assessing the vulnerability of Brazilian municipalities to the vectorial transmission of *Trypanosoma cruzi* using multi-criteria decision analysis. *Acta Trop.* 137, 105–110. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.05.007>.

Urioste-Stone, S.M., Pennington, P.M., Pellecer, E., Aguilar, T.M., Samayoa, G., Perdomo, H.D., Enríquez, H., Juárez, J.G., 2015. Development of a community-based intervention for the control of Chagas disease based on peridomestic animal management: an eco-bio-social perspective. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 109, 159–167. <https://doi.org/10.1093/trstmh/tru202>.

Waleckx, E., Gourbière, S., Dumonteil, E., 2015. Intrusive versus domiciliated triatomines and the challenge of adapting vector control practices against Chagas disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 110, 324–338. <https://doi.org/10.1590/0074-02760140409>.

Walter, A., Rego, I.P., Ferreira, A.J., Rogier, C., 2005. Risk factors for reinvasion of human dwellings by sylvatic triatomines in northern Bahia State, Brazil. *Cad. Saúde Pública* 21, 974–978. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2005000300034>.

WHO, 2015. Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. *Wkly Epidemiol. Rec.* 90, 33–44. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/242316> (accessed 10 August 2020).

Yevstigneyeva, V., Camara-Mejia, J., Dumonteil, E., 2014. Analysis of children's perception of triatomine vectors of Chagas disease through drawings: opportunities for targeted health education. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003217>.

CAPÍTULO 2 – Mamíferos silvestres envolvidos na transmissão de *Trypanosoma cruzi* e as fontes alimentares de *Triatoma sherlocki* (Papa et al., 2002) em uma região endêmica do Nordeste do Brasil¹

RESUMO – Apesar do número reduzido de surtos da doença de Chagas (DC) na última década, ciclos silvestres de transmissão de *Trypanosoma cruzi* representam um risco de reemergência da doença de Chagas (DC) em regiões em que triatomíneos silvestres invadem domicílios. O presente estudo, realizado no município de Gentio do Ouro, Bahia, objetivou avaliar quais mamíferos silvestres podem estar envolvidos na transmissão de *T. cruzi* e quais as fontes sanguíneas de alimentação dos triatomíneos coletados na área de estudo. A análise por PCR de 31 mamíferos silvestres capturados revelou a infecção por *T. cruzi* em 6,4% (2/31): um espécime de *Didelphis albiventris* (1/3) e um de *Kerodon rupestris* (1/5), apesar de mais frequente na área, nenhum espécime de *Thrichomys* sp. (0/23) estava infectado. Um total de 169 triatomíneos foram capturados (152 no ambiente silvestre e 17 no doméstico): *Triatoma sherlocki* (n = 164), *Triatoma sordida* (n = 4) e *Panstrongylus sherlocki* sn *Panstrongylus lutzi* (n = 1). A detecção conclusiva das fontes alimentares foi possível apenas para *T. sherlocki* (n = 56), sendo evidenciado: *K. rupestris* [35,7% (20/56)], *Gallus gallus* [17,9% (10/56)], *D. albiventris* [14,3% (8/56)], *Homo sapiens* [14,3% (8/56)], *Tropidurus hispidus* [7,1% (4/56)], *Leopardus geoffroyi* [5,3% (3/56)], *Conepatus semistriatus* [1,8% (1/56)], *Thrichomys inermis* [1,8% (1/56)] e *Rattus norvegicus* [1,8% (1/56)]. O ecletismo alimentar de *T. sherlocki* demonstrado, incluindo humanos, bem como sua detecção também nos domicílios, torna esse triatomíneo um potencial elo de transmissão de *T. cruzi* entre os ambientes silvestre e doméstico, evidenciando um risco latente de reemergência de surtos de DC na região estudada.

PALAVRAS-CHAVE: *Didelphis albiventris*; *Kerodon rupestris*; *Thrichomys* sp.; triatomíneos; ciclo silvestre.

¹ O artigo foi submetido a revista Acta Tropica, ISSN: 0001-706X; QUALIS A1; Apêndice 2 – Print do comprovante de submissão do artigo do Capítulo 2

ABSTRACT – Despite the reduced number of outbreaks of Chagas disease (CD) in the last decade, sylvatic transmission cycles of *Trypanosoma cruzi* represent a risk of re-emergence of the disease in regions where wild triatomines invade households. The present study, carried out in the municipality of Gentio do Ouro, Bahia, aimed to evaluate which wild mammals may be involved in the transmission of *T. cruzi* and which are the blood sources of food for triatomines collected in the study area. PCR analysis of 31 wild mammals captured revealed *T. cruzi* infection in 6.4% (2/31): one specimen of *Didelphis albiventris* (1/3) and one of *Kerodon rupestris* (1/5), despite being more frequent in the area, none specimen of *Thrichomys* sp. (0/23) was infected. A total of 169 triatomines were captured (152 in a wild environment and 17 in a domestic environment): *Triatoma sherlocki* (n = 164), *Triatoma sordida* (n = 4) and *Panstrongylus sherlocki* sn *Panstrongylus lutzi* (n = 1). The conclusive detection of food sources was possible only for *T. sherlocki* (n = 56), with evidence for: *K. rupestris* [35.7% (20/56)], *Gallus gallus* [17.9% (10/56)], *D. albiventris* [14.3% (8/56)], *Homo sapiens* [14.3% (8/56)], *Tropidurus hispidus* [7.1% (4/56)], *Leopardus geoffroyi* [5.3% (3/56)], *Conepatus semistriatus* [1.8% (1/56)], *Thrichomys inermis* [1.8% (1/56)] and *Rattus norvegicus* [1.8% (1/56)]. The food eclecticism of *T. sherlocki* demonstrated, including humans, as well as its detection also in households, makes this triatomine a potential link for the transmission of *T. cruzi* between wild and domestic environments, highlighting a latent risk of the reemergence of CD outbreaks in the region studied.

KEYWORDS: *Didelphis albiventris*; *Kerodon rupestris*; *Thrichomys* sp.; triatomine; sylvatic cycle.

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) é causada por *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), protozoário que infecta mamíferos silvestres (Nantes et al., 2019; Nichols et al., 2019), animais domésticos (Bezerra et al., 2014; Cantillo-Barraza et al., 2015) e humanos (Lima et al., 2012; Sangenis et al., 2015). A presença endêmica de *T. cruzi* em uma região é viabilizada por ciclos silvestres de transmissão do protozoário, envolvendo

diversas espécies de triatomíneos e animais silvestres (Bezerra et al., 2014; Lima et al., 2012).

No mundo foram descritas 158 espécies de triatomíneos, das quais 66 ocorrem no Brasil (Alevi et al., 2021; Costa et al., 2021; Gil-Santana et al., 2022), e dessas 26 foram registradas no Estado da Bahia (Sousa et al., 2020), onde se destacam as espécies dos gêneros *Triatoma*, *Rhodnius* e *Panstrongylus*, todos de importância epidemiológica pelo envolvimento no ciclo de transmissão vetorial de *T. cruzi* (Araújo-Neto, et al., 2019; Lima et al., 2012; Sangenis et al., 2015). Os triatomíneos do complexo *Triatoma brasiliensis* são os mais importantes vetores da DC no semiárido nordestino (Dale et al., 2018). Fazem parte deste complexo de triatomíneos duas subespécies (*T. b. brasiliensis* Neiva, 1911 e *T. b. macromelasoma* Galvão, 1956) e seis espécies (*T. bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967, *T. juazeirensis* Costa & Felix, 2007, *T. lenti* Sherlock & Serafim, 1967, *T. melanica* Neiva & Lent, 1941, *T. petrocchiai* Pinto & Barreto, 1925, e *T. sherlocki* Papa et al., 2002). Espécimes de *T. b. brasiliensis* provavelmente estiveram envolvidos no recente surto da DC no Estado do Rio Grande do Norte (Vargas et al., 2018; Monsalve-Lara et al., 2021).

Entre os membros do complexo *T. brasiliensis*, a espécie *T. sherlocki* é a mais diferenciada devido suas pernas mais longas e condição braquíptera, asas curtas que impossibilitam o voo mesmo quando submetidas à inanição (Almeida et al., 2012). Essas características morfológicas, combinadas com tonalidade avermelhada semicirculares no conexivo e nas pernas (Dale et al., 2018) diferenciam espécimes adultas de *T. sherlocki* de outras espécies de triatomíneos do mesmo complexo. Trata-se de uma espécie endêmica de uma região do município de Gentio do Ouro, Bahia, Brasil, sendo ainda pouco estudada em sua ecologia e hábito alimentar. Estudos vem sendo conduzidos para esta espécie de triatomíneo, que teve caracterizado: o ciclo de vida e potencial vetorial (Lima-Neiva et al., 2017); a morfologia das suas ninfas (Rosseto et al., 2021); as cepas isoladas de *T. cruzi* (Kunii et al., 2022); e os genótipos TcI e TcII de *T. cruzi* (Waniek et al., 2020). Além disso, sabe-se que esta espécie apresenta alta frequência de infecção por *T. cruzi* e capacidade de invadir domicílios (Almeida et al., 2009; Ribeiro et al., 2019), inclusive foi encontrado espécime de *T. sherlocki* infectado pelo protozoário em ambiente doméstico na área do presente estudo (Santos et al., 2022).

Diversas espécies de animais silvestres e domésticos servem de fonte alimentar para os triatomíneos (Bezerra et al., 2018; Hernández et al., 2016). No entanto, nem todas participam do ciclo de transmissão de *T. cruzi*, a exemplo de algumas espécies de aves e répteis conhecidos como refratários ao protozoário (Botto-Mahan et al., 2022; Daflon-Teixeira et al., 2019; Flores-Ferrer et al., 2019; Martínez-Hernández et al., 2022). Sabe-se que animais refratários podem contribuir, como fonte de alimentação, para manutenção de populações de triatomíneos, oportunizando a colonização intra e peridomiciliar, elevando o risco de exposição de humanos ao *T. cruzi* (Cantillo-Barraza et al., 2015). Para compreender a dinâmica entre os ciclos de transmissão de *T. cruzi* em ambiente doméstico e silvestre de determinada região, é necessário analisar a biodiversidade de animais utilizados na alimentação sanguínea pelos triatomíneos, bem como o possível papel desses animais como hospedeiros/reservatórios de *T. cruzi*. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar, em uma área endêmica para o protozoário no Nordeste do Brasil, quais mamíferos silvestres podem estar envolvidos na transmissão de *T. cruzi* e identificar as fontes alimentares de sangue utilizadas pelos triatomíneos.

2. MATÉRIAS E MÉTODOS

2.1. Área estudada

O estudo foi realizado no distrito de Santo Inácio (11°11'08.1"S 42°72'09.2"W), pertencente ao município de Gentio do Ouro, Bahia, Brasil. O distrito conta com cerca de 255 habitantes, e está inserido no bioma Caatinga, com vegetação formada por pequenos arbustos retorcidos e cactáceas, típico do clima semiárido, com chuvas concentradas nos meses de setembro a março, com precipitação anual de ~750mm e temperatura média de 25°C (SEI, 2018). A presença de pequenos riachos e pinturas rupestres nos afloramentos rochosos torna o distrito uma atração turística na região.

As coletas foram realizadas no período de novembro de 2018 a fevereiro de 2019. A área de estudo foi dividida em: i) ambiente silvestre, com a presença de afloramentos rochosos, nos quais, em alguns locais, havia a presença de excrementos (fezes e urina) de mamíferos silvestres e ii) ambiente doméstico, com a presença de domicílios, alguns com instalações para animais domésticos no peridomicílio (exemplo galinheiro e aprisco para ovelhas). O ambiente silvestre foi dividido em quadrantes para captura de animais silvestres e triatomíneos (Figura 1), com divisão espacial que permitisse uma distribuição equânime da área e considerasse limites geográficos (riachos e estradas).

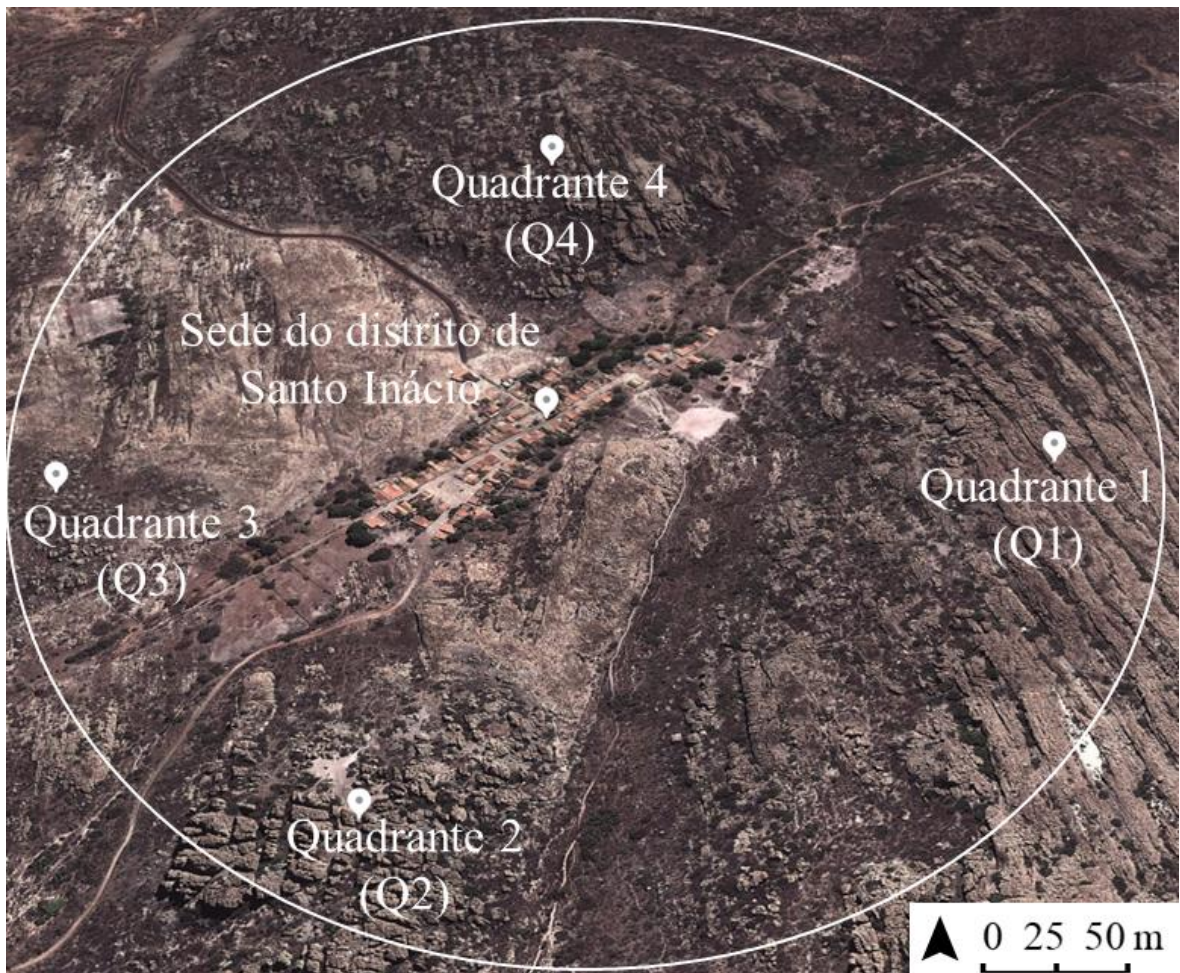


Figura 1. Sede do distrito de Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brasil, destacando os quadrantes (Q1, Q2, Q3 e Q4) onde ocorreram as capturas de animais silvestres e triatomíneos. Fonte: Google Earth®.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Escola de Medicina Veterinária e Zootécnica da Universidade Federal da Bahia (UFBA protocolo 75/2017) e autorizado pela Agência Ambiental Brasileira (IBAMA/SISBIO, protocolo 61011-2).

2.2. Captura e coleta de sangue de mamíferos silvestres

Cerca de 13 armadilhas do modelo tomahawk (44cm x 16cm x 16cm e 76cm x 36cm x 36cm) foram instaladas com 5 a 10 metros de distância uma da outra em cada um dos quadrantes. As armadilhas foram dispostas, durante dois dias seguidos em cada quadrante, sempre no final da tarde e verificadas nas primeiras horas da manhã. Como isca foi utilizado uma pasta composta por manga, sardinha e fubá de milho. A distância média entre os locais da instalação das armadilhas e o ambiente doméstico foi de 500m. As capturas em cada um dos quadrantes foram realizadas em períodos distintos de visitas da equipe a campo. A escolha dos locais para a instalação das armadilhas levou em consideração as indicações de visualização de animais silvestres feita pelos moradores do distrito. O sucesso da captura foi definido pelo número total de animais capturados nas noites de exposição das armadilhas, dividido pelo número total de armadilhas usadas no período do estudo.

Os animais capturados foram submetidos à contenção química com ketamina (10-15mg/kg) e midazolam (1-2mg/kg) por via intramuscular, de acordo com as respectivas massas corporais. As espécies foram identificadas e dados sobre sexo, idade e massa corporal, bem como dados clínicos (escore corporal, cloração e hidratação das mucosas) foram registrados. O escore corporal foi definido com base na cobertura de gordura corporal, saliência óssea e perda de massa muscular. Os animais capturados tiveram uma marca tatuada para evitar a recaptura. As vias de coleta de amostras de sangue total variaram de acordo com a espécie capturada (veia femoral, caudal e safena lateral). As coletas foram realizadas em condições assépticas, com tubos contendo EDTA, não ultrapassando o volume equivalente a 1% da massa corporal do animal. As amostras de sangue foram imediatamente refrigeradas e transportadas para o laboratório do Centro Multidisciplinar do *Campus* de Barra da Universidade Federal do Oeste da Bahia (CMB/UFOB), sendo estocadas a -20°C. Os animais silvestres foram soltos no local em que foram capturados, após cessar os efeitos da sedação.

2.3. Detecção de *T. cruzi* em mamíferos silvestres

Para extração do DNA das amostras de sangue dos animais silvestres foi utilizado o kit comercial (PureLink Genomic DNA Mini Kit, Invitrogen®, CA, USA) seguindo as recomendações do fabricante, sendo o DNA eluído em 20 µl final. A concentração do DNA de todas as amostras foi determinada em espectrofotômetro NanoDrop™ (Thermo Fisher Scientific, MA, USA), apresentando aproximadamente 50 ng/µl. O DNA foi estocado a -80°C até o momento do uso.

A PCR convencional visou amplificar 188pb de uma região microssatélite de DNA nuclear de *T. cruzi*. Foram utilizados os *primers* TCZ1 (5'-CGA GCT CTT GCC CAC ACG GGT GCT-3') e TCZ2 (5'-CCT CCA AGC AGC GGA TAG TTC AGG-3'), específicos para diagnóstico de *T. cruzi*, sendo possível detectar um único parasito em uma amostra de sangue, em infecções crônicas e agudas (Kirchhoff et al., 1996; Nichols et al., 2019), além de detectar todas as cepas de *T. cruzi*. As reações de PCR foram realizadas em volume final de 20 µL, utilizando tampão 1x (Invitrogen®, CA, USA), 1x do Q-Solution (Qiagen®, Hilden, Germany), 0,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de dNTPs, 0,5 µM de cada *primer*, 1,0 U de Taq Hot Start (Qiagen®, Hilden, Germany), 1 µl de DNA genômico (50 ng) e água livre de DNase. A reação de PCR foi realizada em termociclador Applied Biosystems (Model 2720; Thermo Fisher Scientific, MA, USA), com a termociclagem de 94 °C por 5 min, seguida de 40 ciclos de 94 °C por 20 seg, 59 °C por 30 seg e 72 °C por 30 seg, com uma extensão final de 72 °C por 5 min.

Os produtos da PCR foram corados com Sybr Gold® (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) e submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose 1,5%, em tampão Tris borato EDTA (TBE), juntamente com o marcador de peso molecular 100 pb (Invitrogen®, CA, USA). Os resultados foram visualizados em transiluminador de luz UV e fotografados com o Fotodocumentador Transiluminador UV - L.Pix (Loccus Biotecnology, SP, Brazil). O controle positivo foi uma amostra de triatomíneo positiva para *T. cruzi* previamente sequenciada e com 99% de identidade com sequência depositada no GenBank (CP015671.1) e para o controle negativo foi utilizada água ultrapura. Os produtos da PCR foram purificados com polietilenoglicol (PEG800) e quantificados por nanofotometria

(NanoDrop™, Thermo Fisher Scientific, MA, USA), sendo encaminhados para o serviço particular de sequenciamento bidirecional de DNA (Sanger et al., 1977) no Instituto Gonçalo Moniz (IGM/Fiocruz-BA).

2.4. Triatomíneos

A captura dos triatomíneos em ambiente doméstico ocorreu durante o dia com uso de luvas e pinças, além de lanternas quando necessário. A busca de triatomíneos foi realizada em todos os cômodos de cada domicílio, sempre no sentido horário, vistoriando sob os colchões, atrás de móveis e em frestas que poderiam abrigar os vetores. No peridomicílio, a busca abrangeu os abrigos de animais domésticos, a exemplo de galinheiro, aprisco para ovelha, bem como, pilhas de telhas/tijolos, cercas de madeira e locais com acúmulo de lixo. Foram incluídos neste estudo também os triatomíneos capturados nos domicílios pelos moradores do distrito. Os triatomíneos capturados foram acondicionados em tubos plásticos com tampa, possibilitando aeração e contendo papel filtro (Galvão, 2014).

No ambiente silvestre, a captura manual dos triatomíneos ocorreu ao entardecer, nas superfícies e fissuras dos afloramentos rochosos, buracos em tronco de árvores e tocas de animais silvestres. Foram incluídos neste estudo também os triatomíneos capturados durante o dia no momento da captura de mamíferos silvestres. Os triatomíneos foram identificados com data e local da captura. Os espécimes coletados foram encaminhados ao Laboratório do CMB/UFOB para identificação taxonômica por microscopia óptica dos caracteres da cabeça, tórax e abdome, de acordo com Galvão (2014) e Dale et al. (2018). Os insetos foram classificados em ninfas, machos e fêmeas.

2.5. Determinação da fonte alimentar dos triatomíneos

Para a extração do DNA foi utilizado o intestino de cada triatomíneo, usando o protocolo DNAzol (DNAzol; Gibco BRL/Life Technologies, Gaithersburg, MD, EUA) (Ribeiro et al., 2019), sendo o DNA eluído em 50 µl final. A concentração do DNA de todas as amostras foi determinada em espectrofotômetro NanoDrop™ (Thermo Fisher Scientific, MA, USA), apresentando aproximadamente 100 ng/µl, sendo estocados a -80 °C até o momento do uso.

A PCR visou amplificar um fragmento do gene mitocondrial do citocromo b (Cytb) de vertebrados, produzindo *amplicon* com mais de 350pb, usando o par de *primers* L14841 (5'-AAA AAG CTT CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA-3') e H15149 (5'-AAA CTG CAG CCC CTC AGA ATG ATA TTT GTC CTC A-3') (Kocher et al., 1989; Lillioso et al., 2020). As reações de PCR foram realizadas em volume final de 25 µL, com tampão 1x (Invitrogen®, CA, USA), 1,2 mM de MgCl₂, 0,2 mM de dNTPs, 0,12 µM de cada *primer*, 1,5U de Platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen®, CA, USA), 1 µl de DNA genômico (50ng de DNA) e água livre de DNase. A reação foi realizada em termociclador Applied Biosystems (Model 2720; Thermo Fisher Scientific, MA, USA), com a programação de 94°C por 4 min, seguida de 47 ciclos de 92°C por 45 seg, 54°C por 30 seg e 72°C por 90 seg, com uma extensão final de 72°C por 10 min.

As amostras positivas foram purificadas e os produtos de PCR (*amplicons*) que apresentaram a concentração de DNA acima de 40 ng foram encaminhados para prestação de serviço particular de sequenciamento bidirecional de DNA (Sanger et al., 1977), no Instituto Gonçalo Moniz (IGM/Fiocruz-BA).

Os eletroferogramas das sequências *forward* e *reverse* de cada amostra foram analisados, utilizando o pacote Staden (Bonfield et al., 1995) e as que apresentavam consenso entre si tiveram sua identidade confirmada por comparação com sequências depositadas no GenBank pelo NCBI – BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome). Selecionamos apenas resultados de sequências com valores de identidade e cobertura >90%. A espécie de vertebrado correspondente a identidade mais alta

foi considerada a fonte alimentar para os triatomíneos examinados. Com exceção do sequenciamento de DNA, todas análises do presente estudo foram realizadas no Laboratório de Biologia Celular e Molecular (LBCM) do Hospital de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

2.6. Análise dos dados

Os dados obtidos dos animais silvestres e triatomíneos capturados, bem como das fontes alimentares de triatomíneos detectadas foram tabulados em planilhas (Excel[®] 2010) e avaliados descritivamente na forma de frequência absoluta e porcentagem.

3. RESULTADOS

3.1. Análise dos mamíferos silvestres

O sucesso da captura dos animais silvestres foi de 29,2% (31/106), visto que de 106 armadilhas distribuídas em oito noites, foram capturados 31 mamíferos silvestres. Desses, 74,2% (23/31) foram roedores da espécie *Thrichomys* sp., 16,1% (5/31) roedores *Kerodon rupestris* e 9,7% (3/31) marsupiais *Didelphis albiventris*. Todos os animais capturados apresentaram-se hígidos e sem lesões aparentes. Demais características dos animais silvestres são apresentadas na Tabela 1. Foi detectado e confirmado por sequenciamento DNA de *T. cruzi* em uma fêmea jovem da espécie *D. albiventris*, capturada no quadrante 4 (Q4) e em uma fêmea adulta da espécie *K. rupestris*, capturada no quadrante 3 (Q3). Nenhum espécime de *Thrichomys* sp. estava infectado pelo protozoário.

Tabela 1 Características de 31 animais silvestres pertencentes às espécies *Thrichomys* sp., *Kerodon rupestris* e *Didelphis albiventris* capturados no ambiente silvestre do distrito de Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brasil, no período de novembro de 2018 a fevereiro de 2019.

Variáveis	Espécies (nome comum)			Total N (%)
	<i>Thrichomys</i> sp. (rabudo)	<i>Kerodon rupestris</i> (mocó)	<i>Didelphis albiventris</i> (gambá)	
Ambiente silvestre				
Quadrante 1	4	0	0	4 (12,9)
Quadrante 2	10	3	0	13 (41,9)
Quadrante 3	9	1	2	12 (38,7)
Quadrante 4	0	1	1	2 (6,5)
Sexo				
Fêmea	9	5	3	17 (54,8)
Macho	14	0	0	14 (45,2)
Idade				
Adulto	21	5	0	26 (83,9)
Jovem	2	0	3	5 (16,1)
^a Massa corporal (g)	210 (90-350)	870 (790-940)	100 (90-450)	..
Escore corporal				
Ideal	22	5	3	30 (96,8)
Magro	1	0	0	1 (3,2)
Resultado/T. cruzi				
Positivo	0	1	1	2 (6,5)
Negativo	23	4	2	29 (93,5)
Total	23	5	3	31 (100)

^a Mediana (valor mínimo – valor máximo da massa corporal).

3.2. Análise dos triatomíneos

Na área de estudo, foram capturados 169 triatomíneos. Desses, 14 eram de uma mesma colônia e 155 foram capturados individualmente em diversos locais. A espécie *Triatoma sherlocki* foi a mais frequente (n = 164), seguida das espécies *Triatoma sordida* (Stal, 1859) (n = 4) e *Panstrongylus sherlocki* sn *Panstrongylus lutzi* (Jurberg, Carcavallo e Lent, 2001) (n = 1). As características dos triatomíneos são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 Características de 169 triatomíneos capturados no distrito de Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brasil, no período de novembro de 2018 a fevereiro de 2019.

Variáveis	Espécies			Total N (%)
	<i>Triatoma sherlocki</i>	<i>Triatoma sordida</i>	<i>Panstrongylus sherlocki</i> sn <i>Panstrongylus lutzi</i>	
Ambiente				
<u>Silvestre^a</u>				
Quadrante 1	66	0	0	66 (39,0)
Quadrante 2	50	0	0	50 (29,6)
Quadrante 3	18	0	0	18 (10,7)
Quadrante 4	18	0	0	18 (10,7)
<u>Doméstico</u>				
Domicílios	12 ^b	4 ^c	1	17 (10,0)
Fase de vida				
Ninfa	111	2	0	113 (66,8)
Fêmea	27	1	0	28 (16,6)
Macho	26	1	1	28 (16,6)
Total	164	4	1	169 (100)

^aSete (7) espécimes de *T. sherlocki* foram capturados pela manhã (até às 9h); ^bSeis espécimes de *T. sherlocki* foram capturados nos domicílios pelos moradores do distrito; ^cUm espécime de *T. sordida* foi capturado no domicílio por morador.

Fragmentos de DNA de sangue ingerido por 108 triatomíneos [63,9% (108/169)] foram amplificados (~350 pb, correspondendo ao DNA do Cytb). Desses, 84 (77,8%) apresentaram adequada concentração de DNA e foram então submetidos ao sequenciamento de DNA para confirmação da espécie animal. Um total de 56 amostras [66,7% (56/84)] sequenciadas apresentaram consenso de 350-382pb (média = 372pb) e foram comparadas com sequências de DNA depositadas no GenBank para confirmação da espécie animal (Arquivo suplementar 1). Todas as 56 determinações de fonte alimentar foram oriundas da espécie *T. sherlocki* e distribuídas em três classes: mamíferos, aves e répteis (Tabela 3).

No ambiente silvestre, espécimes de *T. sherlocki* foram capturados excepcionalmente durante o dia (até às 9h) tentando se alimentar em um espécime de *K. rupestris* capturado (Arquivo suplementar 2) e em um humano (Figura 2.A e 2.B). Durante a captura dos animais silvestres nossa equipe presenciou a caça de *K. rupestris* por um morador nos afloramentos rochosos (Figura 2.C).

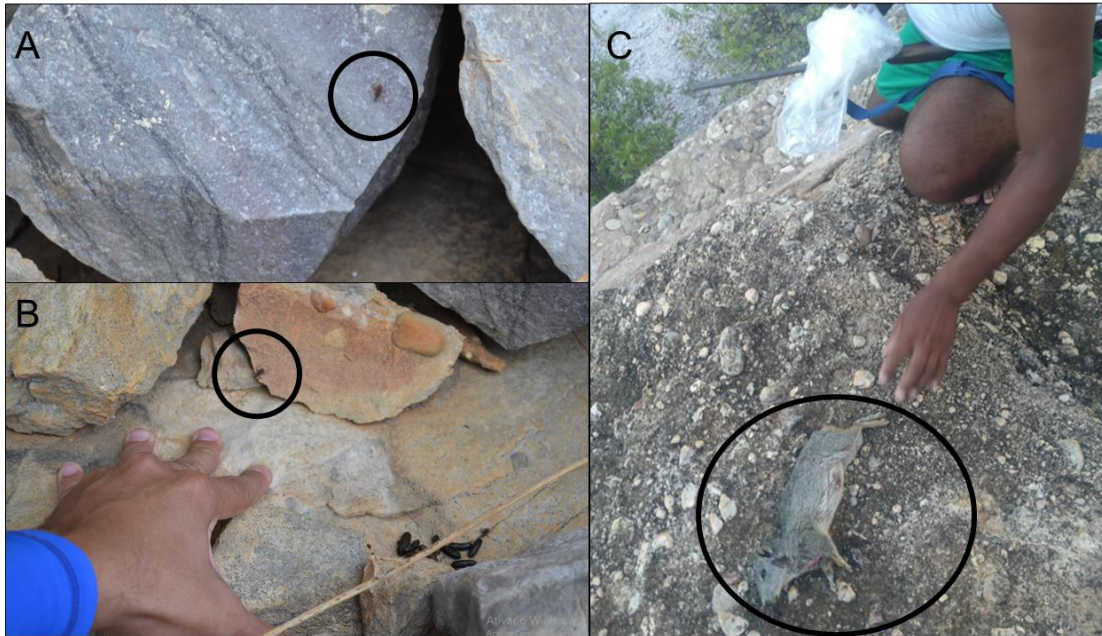


Figura 2. Ambiente silvestre do distrito de Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brasil. (A) Comportamento diurno da ninfa de *Triatoma sherlocki*. (B) Tentativa de repasto sanguíneo em humano por uma ninfa de *T. sherlocki*. (C) Exposição humana aos triatomíneos durante atividade de caça: abate de um espécime de *Kerodon rupestris* por um morador da área do estudo. Fonte: arquivo pessoal.

Tabela 3 Fonte alimentar de sangue de 56 triatomíneos da espécie *T. sherlocki*, capturados em ambiente silvestre e doméstico do distrito de Santo Inácio, Gentio do Ouro, Bahia, Brasil, no período de novembro de 2018 a fevereiro de 2019.

Classe	Família	Espécie	Nome comum	GenBank ID de outros estudos	Identidade (%)	Cobertura (%)	Ambiente		Total N (%)
							Silvestre (n)	Doméstico (n)	
Mamífero	Caviidae	<i>Kerodon rupestris</i>	mocó	GU136722.1	91 - 96	93 - 100	20	0	20 (35,7)
	Didelphidae	<i>Didelphis albiventris</i>	gambá	JF280985.1/ MT892661.1	98 - 99	93 - 94	8 ^a	0	8 (14,3)
	Mephitidae	<i>Conepatus semistriatus</i>	jeritataca	KM047808.1	98	97	1	0	1 (1,8)
	Echimyidae	<i>Thrichomys inermis</i>	rabudo	JX459887.1	93	94	1	0	1 (1,8)
	Felidae	<i>Leopardus geoffroyi</i>	gato do mato	KP202292.1	95	94 - 96	3	0	3 (5,3)
	Muridae	<i>Rattus norvegicus</i>	rato marrom	KY986748.1	99	96	0	1	1 (1,8)
	Hominidae	<i>Homo sapiens</i>	humano	KX697544.1	98 - 100	93 - 100	5	3	8 (14,3)
Ave	Phasianidae	<i>Gallus gallus</i>	galinha	MN148736.1	99 - 100	94 - 100	9	1	10 (17,9)
Réptil	Tropiduridae	<i>Tropidurus hispidus</i>	lagarto	KU245065.1	93 - 95	93 - 100	4	0	4 (7,1)
Total							51	5	56 (100)

^a Sete (7) triatomíneos pertenciam a uma mesma colônia (7/14) e estavam com o abdômen distendidos (ingurgitados).

4. DISCUSSÃO

Percebe-se claramente que nem sempre há uma delimitação entre os ambientes doméstico e silvestre no local estudado, podendo ser observado agrupamentos de rochas nos quintais, bem como afloramentos rochosos nas proximidades dos domicílios (Santos et al., 2022), ambiente que proporciona abrigo para mamíferos silvestres a exemplo de *K. rupestris* (mocó), principal alvo da caça praticada pela população local (Figura 2.C). Nesse mesmo ambiente é comum a invasão de triatomíneos em domicílios (Almeida et al., 2009; Santos et al., 2022), o que torna possível a transmissão de *T. cruzi* para animais domésticos e humanos, devido a alta frequência de infecção por esse protozoário nos triatomíneos (Almeida et al., 2009, Ribeiro et al., 2019). No entanto, as espécies animais passíveis de contribuir para a manutenção de *T. cruzi* e as fontes alimentares acessadas pelos triatomíneos são desconhecidas na região. O presente estudo registrou infecção por *T. cruzi* em *D. albiventris* e *K. rupestris*, além de encontrar uma ampla diversidade de espécies animais servindo de fonte sanguínea para a alimentação dos espécimes de *T. sherlocki* capturados, o que contribui para o maior entendimento da dinâmica de circulação do protozoário e manutenção de populações de triatomíneos no Nordeste do Brasil.

Das três espécies de animais silvestres capturadas apenas duas apresentaram resultado positivo para *T. cruzi* por PCR, um espécime de *D. albiventris* e um espécime de *K. rupestris*. A espécie *Thrichomys* sp. [provavelmente *T. inermis* (Nascimento et al., 2013)], apesar de ter sido capturada em maior número não foi positiva para o protozoário. *D. albiventris* é um reservatório conhecido de *T. cruzi* (Herrera et al., 2005), desempenhando um importante papel no ciclo de transmissão do protozoário, uma vez que transita entre os ambientes silvestre e doméstico, sendo considerada uma espécie sinantrópica (Nantes et al., 2019). A frequência de infecção de *T. cruzi* para *D. albiventris* (33,3%) foi considerada alta e está de acordo com estudos anteriores que relatam a ocorrência de *T. cruzi* na espécie, variando de 9% a 100% dependendo da região amostrada (Drozino et al. 2019; Herrera et al., 2005; Jansen et al., 2015; Jansen et al. 2018; Nantes et al., 2019). A literatura consultada não relata infecção natural por *T. cruzi* em *K. rupestris* (Bezerra et al., 2014; Jansen et al., 2018), sendo este estudo pioneiro ao detectar infecção em 20% dos espécimes coletados dessa espécie de roedor, tornando-o objeto de futuras pesquisas para definir sua importância na epidemiologia da DC.

A negatividade de *Thrichomys* sp. para *T. cruzi* pode ser atribuída ao número reduzido de espécimes capturados, quando comparado à estudos anteriores realizados no semiárido, que relatam a ocorrência de infecção natural por *T. cruzi* em espécies desse gênero com um número maior de indivíduos capturados (Herrera et al., 2005; Jansen et al., 2015; Jansen et al., 2018; Xavier et al. 2007). Entretanto, estudo realizado por Bezerra et al. (2014) no Estado do Ceará, Nordeste do Brasil, não detectou *T. cruzi* em espécies do gênero *Thrichomys*, mesmo sendo esse animal o mais abundante nas capturas. Assim, corroborando com estes estudos, consideramos que o gênero *Thrichomys* seja susceptível à infecção por *T. cruzi*. No entanto, apresenta baixa importância no ciclo de transmissão do protozoário na região estudada.

Os triatomíneos da espécie *T. sherlocki* analisados se alimentavam de mamíferos, aves e répteis, totalizando nove diferentes espécies de vertebrados, evidenciando o ecletismo alimentar desse triatomíneo. Esta diversidade alimentar, assim como a encontrada na espécie *T. brasiliensis* que é considerada domiciliada no Nordeste brasileiro (Lilioso et al., 2020; Lima-Neiva et al., 2021), pode conduzir a uma futura domiciliação também de *T. sherlocki*, já que essas duas espécies pertencem ao mesmo complexo. Outros estudos apontam para ampla diversidade de fontes alimentares de triatomíneos domésticos e silvestres, incluindo humano, galinha, cão, vaca, cabra, roedor, gambá, morcego e tatu (Hernández et al., 2016; Ocaña-Mayorga et al., 2021). Estas descobertas refletem a intrusão de triatomíneos silvestres em domicílios e sua adaptação às fontes alimentares de sangue disponíveis nesse novo ambiente (Hernández et al., 2016; Lilioso et al., 2020; Ocaña-Mayorga et al., 2021).

Kerodon rupestris foi a principal fonte alimentar de sangue dos triatomíneos capturados no ambiente silvestre. No Estado do Rio Grande do Norte, também na região Nordeste do Brasil, *K. rupestris* igualmente é uma das principais fontes de alimentação de triatomíneos capturados em ambientes doméstico e silvestre de áreas preservadas e em processo de desertificação, com o agravante desses triatomíneos apresentarem altas taxas de infecção por *T. cruzi*, o que reforça o possível papel desse roedor como reservatório do protozoário (Almeida et al., 2016; Lilioso et al., 2020; Lima-Neiva et al., 2021). Inclusive, Lilioso et al. (2020) foram os primeiros a comprovar estreita associação de roedores da família Caviidae (70%; 127/181) [principalmente *G. spixii* (64%; 116/181), mas também *K. rupestris* (6%; 11/181)] servindo como fonte alimentar dos triatomíneos da espécie *T. brasiliensis*, capturados principalmente em ambientes peridomiciliares (66%; 84/127) e os mesmos estavam infectados por *T. cruzi*. Os autores relatam que uma população de triatomíneos (colônia MV188P) capturada em uma pilha de lenha do peridomicílio estava 100% infectada pelo protozoário e se alimentava

exclusivamente dos roedores cavídeos (Lilioso et al., 2020). No presente estudo capturamos somente cinco espécimes de *K. rupestris*, porém o fato de um deles estar positivo para *T. cruzi* e, no decorrer das atividades de campo, ser encontrado um espécime adulto de *T. sherlocki* durante o dia na armadilha de um *K. rupestris* capturado, confirma a interação vetor-hospedeiro (Arquivo suplementar 2). *Galea spixii* também é um roedor considerado potencial reservatório para *T. cruzi* e fonte alimentar de triatomíneos no semiárido (Almeida et al., 2016; Lima-Neiva et al., 2021), com a possibilidade de se tornar sinantrópico, já que triatomíneos capturados em ambiente doméstico estavam alimentados com essa espécie de roedor (Lilioso et al., 2020). Entretanto, neste estudo espécime de *G. spixii* não foi capturado e nem detectado como fonte alimentar de *T. sherlocki*, provavelmente por ter menor ocorrência na área estudada.

A generalização de aves e répteis como refratários para *T. cruzi* não é mais válida, porque foi detectado DNA do protozoário em vários órgãos do corpo de uma coruja da espécie *Tyto furcata* (Martínez-Hernández et al., 2022) e de quatro espécies de lagartos (*Microlophus atacamensis*, *Liolaemus platei*, *Liolaemus fuscus* e *Garthia gaudichaudii*), inclusive a espécie *Liolaemus platei* foi capaz de transmitir *T. cruzi* para 96,43% dos triatomíneos durante xenodiagnóstico (Botto-Mahan et al., 2022). No presente estudo foi possível detectar 25% (14/56) dos triatomíneos alimentados com sangue de *G. gallus* e de *T. hispidus*. No distrito de Santo Inácio a criação de *G. gallus* é a mais frequente quando comparada com a de outros animais domésticos e alguns moradores criam as galinhas de forma extensiva (Santos et al., 2022), o que facilita o acesso dos triatomíneos a essas aves, corroborando o fato dessa espécie ser a segunda maior fonte alimentar de sangue observada no estudo. O réptil da espécie *T. hispidus* ocorre nos domicílios e no ambiente silvestre a exemplo dos afloramentos rochosos, constituindo uma fonte alimentar alternativa para *T. sherlocki* em ambos os ambientes. Outros estudos realizados no semiárido também demonstraram espécies de lagartos servindo com fonte alimentar alternativa de triatomíneos, a exemplo de *Mabuya* sp. (Almeida et al., 2016), *Phyllorhynchus pollicaris* (Bezerra et al., 2018) e *Tropidurus semitaeniatus*, *T. hispidus*, *Tupinambis merianae* e *P. periosus* (Lilioso et al., 2020). Estes estudos mostram a necessidade de investigar quais as espécies de aves e répteis podem se infectar com o protozoário, bem como se esses animais são importantes para a disseminação, transmissão e manutenção de *T. cruzi* em determinada região.

Didelphis albiventris representou a terceira fonte alimentar silvestre mais importante para os triatomíneos capturados, sendo que dos triatomíneos alimentados por *D. albiventris*, sete espécimes pertenciam a uma mesma colônia, capturada em uma toca entre as paredes dos

afloramentos rochosos. Apesar de obtermos somente três espécimes de *D. albiventris* durante esforço de captura, o fato de uma delas estar positiva para *T. cruzi* associado ao possível compartilhamento de tocas entre essas espécies, nos leva a considerar *D. albiventris* como importante na manutenção de *T. cruzi* no ambiente silvestre e, por consequência, na epidemiologia da DC para a região. Estudo realizado por Hernández et al. (2016) na Colômbia mostrou uma alta ocorrência de triatomíneos silvestres invasivos em ambiente doméstico, com associação significativa entre fonte alimentar de sangue de *Didelphis* sp. e infecção por *T. cruzi*, reafirmando o potencial papel do gênero *Didelphis* como reservatório do protozoário e elo entre os ciclos silvestre e doméstico.

Neste estudo, a detecção da fonte alimentar de sangue humano nos triatomíneos capturados pode ser atribuída tanto à invasão frequente por *T. sherlocki* observada em domicílios, quanto à algumas atividades humanas externas: caça frequente de animais silvestres; atividades de lazer às margens dos riachos e visitas às pinturas rupestres dos afloramentos rochosos; além de situação mais inusitada, visto que em virtude da baixa qualidade do sinal de telefonia, observa-se com frequência as pessoas subirem nos afloramentos rochosos ao entardecer para utilizar a internet, sendo expostas aos triatomíneos. Essas evidências de contato frequente dos moradores e visitantes com triatomíneos reforçam a importância da realização de estudos mais detalhados sobre a dinâmica de interação entre triatomíneos e as espécies que servem de fonte alimentar nessa região. Além disso, o comportamento agressivo observado nos triatomíneos ao buscarem por alimento, inclusive durante o dia, leva a crer que o avanço das mudanças climáticas, com aumento da temperatura, redução da precipitação média anual e secas prolongadas em algumas regiões do mundo (IPCC, 2021), possa impactar os ambientes naturais em regiões semiáridas mais susceptíveis como o bioma Caatinga (Tabarelli et al., 2017), o que pode resultar em uma gradativa aproximação dos ciclos silvestres de transmissão de *T. cruzi* para o ambiente doméstico, com animais silvestres frequentando o peridomicílio e diferentes espécies de triatomíneos se adaptando ao convívio próximo com humanos, todos buscando alimento e abrigo (Lima-Neiva et al., 2021). Esse provável cenário ecoepidemiológico da DC irá demandar maior atenção por parte dos órgãos de saúde, especialmente no ambiente rural de regiões endêmicas do Nordeste do Brasil.

Cães e gatos não foram identificados como fonte alimentar dos triatomíneos, apesar dos cães pernoitarem no peridomicílio (Santos et al., 2022) e os gatos terem acesso livre ao terreno das casas, o que favoreceria o acesso dos triatomíneos a esses animais na área de estudo. Isso ocorreu provavelmente em virtude do número reduzido de triatomíneos capturados no ambiente

doméstico, bem como, devido à uma menor predileção da espécie *T. sherlocki* em se alimentar de cães e gatos, quando comparado a outras espécies de animais domésticos. Alguns estudos mostram que os membros do complexo de espécies de *T. brasiliensis* não se alimentam de cães (Almeida et al. 2016; Bezerra et al., 2018; Lilioso et al., 2020; Lima-Neiva et al., 2021), que são abundantes em ambientes peridomésticos, reforçando a hipótese de que esse animal não é uma fonte alimentar preferencial dos triatomíneos deste complexo de espécies. Os carnívoros domésticos são considerados bioindicadores da circulação de *T. cruzi* (Bezerra et al., 2014; Daflon-Teixeira, et al., 2019; Herrera et al., 2005). Em estudos anteriores, realizados também no distrito de Santo Inácio, houve o relato de um gato positivo para *T. cruzi* em xenodiagnóstico (Rimoldi et al., 2012) e de cães soropositivos para o parasito (Santos et al., 2022). Os cães e gatos têm maior chance de contrair a infecção por *T. cruzi* por via oral, ao predar roedores e triatomíneos infectados ou lambar o pelo com fezes de triatomíneos infectados (Herrera et al., 2005).

Neste estudo, não foi encontrada associação entre os animais silvestres capturados e as fontes alimentares de sangue detectadas em triatomíneos por quadrante amostrado. No quadrante 1 (Q1) foi capturado apenas espécimes de *Thrichomys* sp., no entanto, oito espécies de vertebrados foram identificadas como fonte alimentar dos triatomíneos nesse mesmo quadrante. Além disso, os triatomíneos capturados no quadrante 4 (Q4) não tiveram suas fontes alimentares detectadas, sendo que foram capturados espécimes de *D. albiventris* e *K. rupestris* nesse quadrante. Estudos sobre o comportamento das espécies envolvidas poderiam contribuir para elucidar a falta de associação espacial.

O par de *primer* L14841/H15149, que amplificam o gene mitocondrial do citocromo b de vertebrados, produz informações filogenéticas a nível intraespecífico (Kocher et al., 1989), possibilitando identificar e diferenciar as espécies animais que servem de fonte alimentar para os triatomíneos capturados em ambientes silvestre e doméstico (Bezerra et al., 2014; Lilioso et al., 2020). Entretanto, a PCR utilizada neste estudo amplifica o DNA do sangue da fonte alimentar predominante no triatomíneo, limitando assim, detectar outras possíveis fontes alimentares em um mesmo inseto (Bezerra et al., 2018). Outra limitação do nosso estudo é que a maioria dos triatomíneos capturados não apresentavam sangue no trato digestório ou apenas quantidade reduzida, insuficiente para amplificação do DNA da espécie animal. Diante disso, é possível supor que a diversidade de animais fonte alimentar de sangue para *T. sherlocki* seja bem maior do que os descritos no presente estudo.

5. CONCLUSÃO

Os triatomíneos da espécie *T. sherlocki* apresentam ecletismo alimentar, sendo detectado uma variedade de espécies de animais silvestre e doméstico como fonte alimentar, inclusive humanos, o que pode conduzir à futura domiciliação desse triatomíneo. Roedores do gênero *Thrichomys* não apresentaram importância no ciclo de transmissão de *T. cruzi*. Entretanto, é provável que tanto *D. albiventris* quanto *K. rupestris*, identificados como fonte alimentar para triatomíneos, sejam reservatórios do protozoário na região estudada, uma vez que foi identificada a presença de infecção por *T. cruzi* nas duas espécies. Os dados demonstram a existência do ciclo silvestre de transmissão de *T. cruzi* e, em consequência, um risco latente de reemergência de surtos de doença de Chagas na região estudada, já que os triatomíneos da espécie *T. sherlocki* invadem os domicílios.

DADO SUPLEMENTAR

Arquivo suplementar 1 – Características gerais dos 56 triatomíneos da espécie *Triatoma sherlocki*, que tiveram sua fonte alimentar de sangue detectada.

Id.	Fase	Ecótopo	Tamanho (bp)	Espécie BLASTED	Cobertura	E-value	Identidade	Acesso
T25	ninfa	silvestre	379	<i>Kerodon rupestris</i>	94%	2E-136	91.88%	GU136722.1
T39	ninfa	silvestre	378	<i>Kerodon rupestris</i>	94%	5E-138	92.13%	GU136722.1
T59	ninfa	silvestre	378	<i>Kerodon rupestris</i>	94%	5E-138	92.13%	GU136722.1
T60	ninfa	silvestre	367	<i>Kerodon rupestris</i>	96%	2E-137	92.11%	GU136722.1
T62	ninfa	silvestre	380	<i>Kerodon rupestris</i>	93%	5E-138	92.13%	GU136722.1
T67	ninfa	silvestre	378	<i>Kerodon rupestris</i>	93%	2E-136	92.07%	GU136722.1
T95	ninfa	silvestre	356	<i>Kerodon rupestris</i>	99%	2E-137	92.11%	GU136722.1
T100	ninfa	silvestre	382	<i>Kerodon rupestris</i>	93%	5E-138	92.13%	GU136722.1
G27	macho	silvestre	368	<i>Kerodon rupestris</i>	96%	5E-163	96.35%	GU136722.1
G28	ninfa	silvestre	380	<i>Kerodon rupestris</i>	95,51%	5E-158	93%	GU136722.1
G30	fêmea	silvestre	377	<i>Kerodon rupestris</i>	94%	4E-159	95.51%	GU136722.1
G32	ninfa	silvestre	378	<i>Kerodon rupestris</i>	93%	8E-156	95.22%	GU136722.1
G33	ninfa	silvestre	367	<i>Kerodon rupestris</i>	97%	4E-159	95.54%	GU136722.1
G34	ninfa	silvestre	378	<i>Kerodon rupestris</i>	94%	5E-158	95.51%	GU136722.1
G35	ninfa	silvestre	378	<i>Kerodon rupestris</i>	94%	5E-158	95.51%	GU136722.1
G36	ninfa	silvestre	380	<i>Kerodon rupestris</i>	93%	5E-158	95.51%	GU136722.1
G45	ninfa	silvestre	368	<i>Kerodon rupestris</i>	96%	3E-160	95.77%	GU136722.1
G47	ninfa	silvestre	378	<i>Kerodon rupestris</i>	93%	8E-136	91.83%	GU136722.1
G48	ninfa	silvestre	368	<i>Kerodon rupestris</i>	97%	5E-158	95.24%	GU136722.1
G61	ninfa	silvestre	350	<i>Kerodon rupestris</i>	100%	4E-153	95.14%	GU136722.1
T69	ninfa	silvestre	370	<i>Didelphis albiventris</i>	94%	7E-180	99.16%	JF280985.1
T70	ninfa	silvestre	380	<i>Didelphis albiventris</i>	94%	7E-180	99.16%	JF280985.1
T72	ninfa	silvestre	370	<i>Didelphis albiventris</i>	94%	1E-180	99.16%	JF280985.1
T75	ninfa	silvestre	380	<i>Didelphis albiventris</i>	93%	9E-180	99.16%	MT892661.1
T80	ninfa	silvestre	380	<i>Didelphis albiventris</i>	93%	9E-180	99.16%	MT892661.1
T84	ninfa	silvestre	370	<i>Didelphis albiventris</i>	94%	9E-180	99.16%	MT892661.1
T85	macho	silvestre	380	<i>Didelphis albiventris</i>	94%	9E-180	99.16%	MT892661.1
G46	fêmea	silvestre	365	<i>Conenatus semistriatus</i>	97%	1E-174	98.31%	KM047808.1
G43	ninfa	silvestre	380	<i>Thrichomys inermis</i>	94%	2E-146	93.00%	JX459887.1
T101	macho	silvestre	366	<i>Leopardus geoffroyi</i>	96%	2E-157	95.49%	KP202292.1
G29	ninfa	silvestre	379	<i>Leopardus geoffroyi</i>	94%	5E-158	95.26%	KP202292.1
G31	ninfa	silvestre	367	<i>Leopardus geoffroyi</i>	96%	6E-157	95.48%	KP202292.1
G1	ninfa	peri	368	<i>Rattus norvegicus</i>	96%	0.0	99.44%	KY986748.1
T1	fêmea	intra	380	<i>Homo sapiens</i>	94%	0.0	100%	KX697544.1
T76	ninfa	silvestre	380	<i>Homo sapiens</i>	94%	0.0	99.44%	KX697544.1
G11	macho	intra	370	<i>Homo sapiens</i>	94%	0.0	100%	KX697544.1
G14	ninfa	peri	379	<i>Homo sapiens</i>	94%	0.0	100%	KX697544.1
T22	fêmea	silvestre	370	<i>Homo sapiens</i>	95%	0.0	99.72%	KX697544.1
T23	ninfa	silvestre	370	<i>Homo sapiens</i>	95%	0.0	100%	KX697544.1
T97	fêmea	silvestre	379	<i>Homo sapiens</i>	94%	0.0	100%	KX697544.1
T105	ninfa	silvestre	366	<i>Homo sapiens</i>	96%	0.0	100%	KX697544.1
G13	ninfa	peri	367	<i>Gallus gallus</i>	95%	0.0	100%	MN148736.1
T47	ninfa	silvestre	367	<i>Gallus gallus</i>	97%	0.0	100%	MN148736.1
G17	ninfa	silvestre	361	<i>Gallus gallus</i>	97%	0.0	99.72%	MN148736.1
G18	ninfa	silvestre	378	<i>Gallus gallus</i>	94%	0.0	100%	MN148736.1
G22	ninfa	silvestre	352	<i>Gallus gallus</i>	100%	0.0	100%	MN148736.1
G23	macho	silvestre	364	<i>Gallus gallus</i>	97%	0.0	100%	MN148736.1
G43	fêmea	silvestre	367	<i>Gallus gallus</i>	97%	0.0	100%	MN148736.1
G49	macho	silvestre	382	<i>Gallus gallus</i>	94%	0.0	99.45%	MN148736.1
G54	ninfa	silvestre	378	<i>Gallus gallus</i>	94%	0.0	100%	MN148736.1
G56	ninfa	silvestre	364	<i>Gallus gallus</i>	97%	0.0	100%	MN148736.1
T31	macho	silvestre	350	<i>Tropidurus hispidus</i>	100%	1E-144	93.71%	KU245065.1
T53	ninfa	silvestre	379	<i>Tropidurus hispidus</i>	95%	2E-156	94,00%	KU245065.1
T87	macho	silvestre	380	<i>Tropidurus hispidus</i>	95%	2E-156	93,00%	KU245065.1
T96	ninfa	silvestre	367	<i>Tropidurus hispidus</i>	95%	5E-153	97,00%	KU245065.1
T91	ninfa	silvestre	380	<i>Didelphis albiventris</i>	94%	4E-178	98.88%	MT892661.1

Arquivo suplementar 2 – Vídeo mostrando a interação vetor (*Triatoma sherlocki*) – hospedeiro (*Kerodon rupestris*) em ambiente silvestre.



O vídeo foi disponibilizado na cópia digital em CD – ROM da tese. Fonte: arquivo pessoal.

REFERÊNCIAS

Alevi, K. C. C., Oliveira, J., Rocha, D. S., Galvão, C. Trends in Taxonomy of Chagas Disease Vectors (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): From Linnaean to Integrative Taxonomy. Pathogens 10, 1627, 2021.

Almeida, C. E., Faucher, L., Lavina, M., Costa, J., Harry, M., 2016. Molecular Individual-Based Approach on *Triatoma brasiliensis*: Inferences on Triatomine Foci, *Trypanosoma cruzi* Natural Infection Prevalence, Parasite Diversity and Feeding Sources. PLOS Negl. Trop. Dis. 10 (2), e0004447.

Almeida, C. E., Folly-Ramos, E., Peterson, A. T., Lima-Neiva, V., Gumiel, M., Duarte, R., Lima, M. M., Locks, M., Beltrão, M., Costa, J., 2009. Could the bug *Triatoma sherlocki* be vectoring Chagas disease in small mining communities in Bahia, Brazil? Med. Vet. Entomol. 23 (4), 410 – 417.

Almeida, C. E., Oliveira, H. L., Correia, N., Dornak, L. L., Gumiel, M., Neiva, V. L., Harry, M., Mendonça, V. J., Costa, J., Galvão, C., 2012. Dispersion capacity of *Triatoma sherlocki*, *Triatoma juazeirensis* and laboratory-bred hybrids. Acta Trop. 122, 71–79.

Araújo-Neto, V.T.; Honorato, N.R.M.; Santana, R.O.; Barbosa-Silva, A.N.; Guedes, P.M. M.; Chiari, E.; Galvão, L.M.C.; Câmara, A.C.J. 2019. *Trypanosoma cruzi* circulating among dogs and triatomines in the endemic countryside of the State of Rio Grande do Norte, Brazil. Acta Trop. 200, 105067.

- Bezerra, C. M., Barbosa, S. E., Souza, R. C. M., Barezani, C. P., Gürtler, R. E., Ramos Jr., A. N., Diotaiuti, L., 2018. *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911: food sources and diversity of *Trypanosoma cruzi* in wild and artificial environments of the semiarid region of Ceará, northeastern Brazil. *Parasit. Vectors* 11 (1), 1-14.
- Bezerra, C. M., Cavalcanti, L. P. G., Souza, R. C. M., Barbosa, S. E., Xavier, S. C. C., Jansen, A. M., Ramalho, R. D., Diotaiuti, L., 2014. Domestic, peridomestic and wild hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Caatinga area colonised by *Triatoma brasiliensis*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 109, 887-898.
- Bonfield, J. K., Smith, K. F., Staden, R., 1995. A new DNA sequence assembly program. *Nucleic Acids Res.* 23 (24), 4992–4999.
- Botto-Mahan, C., Correa, J. P., Araya-Donoso, R., Farías, F., San Juan, E., Quiroga, N., Campos-Soto, R., Reyes-Olivares, C., González-Acuña, D. Lizards as Silent Hosts of *Trypanosoma cruzi*. *Emerging Infectious Diseases* 28, n. 6, 1250, 2022.
- Cantillo-Barraza, O., Garcés, E., Gómez-Palacio, A., Cortés, L. A., Pereira, A., Marcet, P. L., Jansen, A. M., Triana-Chávez, O., 2015. Eco-epidemiological study of an endemic Chagas disease region in northern Colombia reveals the importance of *Triatoma maculate* (Hemiptera: Reduviidae), dogs and *Didelphis marsupialis* in *Trypanosoma cruzi* maintenance. *Parasit. Vectors* 8 (1), 1-10.
- Costa, J., Dale, C., Galvão, C., Almeida, C. E., Dujardin, J. P., 2021. Do the new triatomine species pose new challenges or strategies for monitoring Chagas disease? An overview from 1979-2021. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 116, e210015.
- Daflon-Teixeira, N. F., Coutinho, C., Gomes, T. F., Toma, H. K., Duarte, R. Bóia, M. N., Carvalho-Costa, F. A., Almeida, C. E., Lima, M. M., 2019. Multiple Approaches to Address Potential Risk Factors of Chagas Disease Transmission in Northeastern Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 100 (2), 296–302.
- Dale, C., Almeida, C. E., Mendonça, V. J., Oliveira, J., Rosa, J. A., Galvão, C., Costa, J., 2018. An updated and illustrated dichotomous key for the Chagas disease vectors of *Triatoma brasiliensis* species complex and their epidemiologic importance. *ZooKeys* 805, 33 – 43.
- Drozino, R. N., Otomura, F. H., Gazarini, J., Gomes, M. L., Toledo, M. J. O., 2019. *Trypanosoma* Found in Synanthropic Mammals from Urban Forests of Paraná, Southern Brazil. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 19, 828-834.
- Flores-Ferrer, A., Waleckx, E., Rascalou, G., Dumonteil, E., Gourbière, S., 2019. *Trypanosoma cruzi* transmission dynamics in a synanthropic and domesticated host community. *PLOS Negl. Trop. Dis.* 13 (12), e0007902.
- Galvão, C., org. 2014. Vetores da doença de Chagas no Brasil [online]. Curitiba/PR: Sociedade Brasileira de Zoologia, 289p. Série Zoologia: guias e manuais de identificação. ISBN 978-85-98203-09-6. Available from SciELO Books
URL:<http://books.scielo.org/id/mw58j>.<https://doi.org/10.7476/9788598203096> (acessado em 11 de fevereiro de 2020).

Gil-Santana, H. R., Chavez, T., Pita, S., Panzera, F., Galvão, C., 2022. *Panstrongylus noireaui*, a remarkable new species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) from Bolivia. *ZooKeys* 1104, 203–225.

Hernández, C., Salazar, C., Brochero, H., Teherán, A., Buitrago, L. S., Vera, M., Soto, H., Florez-Rivadeneira, Z., Ardila, S., Parra-Henao, Ramírez, J. D., 2016. Untangling the transmission dynamics of primary and secondary vectors of *Trypanosoma cruzi* in Colombia: parasite infection, feeding sources and discrete typing units. *Parasit. Vectors* 9 (1), 1-12.

Herrera, L., D'Andrea, P. S., Xavier, S. C. C., Mangia, R. H., Fernandes, O., Jansen, A. M., 2005. *Trypanosoma cruzi* infection in wild mammals of the National Park 'Serra da Capivara' and its surroundings (Piauí, Brazil), an area endemic for Chagas disease. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 99 (5), 379–388.

IPCC, 2021: Summary for Policymakers. In: *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Masson-Delmotte, V., P. Zhai, A. Pirani, S.L. Connors, C. Péan, S. Berger, N. Caud, Y. Chen, L. Goldfarb, M.I. Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J.B.R. Matthews, T.K. Maycock, T. Waterfield, O. Yelekçi, R. Yu, and B. Zhou (eds.)]. Cambridge University Press. In Press. ISBN 978-92-9169-158-6. Available from: [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fwww.ipcc.ch%2Freport%2Far6%2Fwg1%2Fdownloads%2Freport%2FIPCC_AR6_WGI_SPM_final.pdf&clen=3709604&chunk=true](https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/downloads/report/IPCC_AR6_WGI_SPM_final.pdf) (acessado em 02 de abril de 2021).

Jansen, A. M., Xavier, S.C.C., Roque, A. L. R., 2015. The multiple and complex and changeable scenarios of the *Trypanosoma cruzi* transmission cycle in the sylvatic environment. *Acta Trop.* 151, p.1–15.

Jansen, A. M., Xavier, S. C. C., Roque, A. L. R., 2018. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. *Parasit. Vectors* 11 (1), 1-25.

Kirchhoff, L. V., Votava, J. R., Ochs, D. E., Moser, D. R., 1996. Comparison of PCR and Microscopic Methods for Detecting *Trypanosoma cruzi*. *J. Clin. Microbiol.* 34 (5), 1171–1175.

Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A., Edwards, S. V., Paabo, S., Villablanca, F. X., Wilson, A. C., 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved *primers*. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA*, 86 (16), 6196-6200.

Kunii, G. K. W., Falcone, R., Clementino, L. C., Rosa, J. A., Nascimento, J. D., Belintani, T., Oliveira, J., Ribeiro, A. R., 2022. Growth Curve, Morphological and Molecular Characterization of Two Strains of *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) isolated from *Triatoma sherlocki* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 55, e0521.

- Lilioso, M., Reigada, C., Pires-Silva, D., Fontes, F. H. M., Limeira, C., Monsalve-Lara, J., Folly-Ramos, E., Harry, M., Costa, J., Almeida, C. E., 2020. Dynamics of food sources, ecotypic distribution and *Trypanosoma cruzi* infection in *Triatoma brasiliensis* from the northeast of Brazil. PLOS Negl. Trop. Dis. 14 (9), e0008735.
- Lima, M. M., Sarquis, O., Oliveira, T. G., Gomes, T. F., Coutinho, C., Daflon-Teixeira, N. F., Toma, H. K., Britto, C., Teixeira, B. R., D'andrea, P. S., Jansen, A. M., Bóia, M. N., Carvalho-Costa, F. A., 2012. Investigation of Chagas disease in four periurban áreas in northeastern Brazil: epidemiologic survey in man, vectors, non-human hosts and reservoirs. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 106 (3), 143-149.
- Lima-Neiva, V., Gonçalves, T.C.M., Bastos, L.S., Gumiel, M., Correia, N.C., Silva, C.C., Almeida, C.E., Costa, J., 2017. Biology of *Triatoma sherlocki* (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions: biological cycle and resistance to starvation. J. Med. Entomol. 54, 831–836.
- Lima-Neiva, V., Toma, H. K., Aguiar, L. M. A., Lopes, C. M., Dias, L. P., Gonçalves, T. C. M., Costa, J. 2021. The connection between *Trypanosoma cruzi* transmission cycles by *Triatoma brasiliensis brasiliensis*: A threat to human health in an area susceptible to desertification in the Seridó, Rio Grande do Norte, Brazil. PLOS Negl. Trop. Dis. 15 (11), e0009919.
- Martínez-Hernández, F., Oria-Martínez, B., Rendón-Franco, E., Villalobos, G., Muñoz-García, C. I. *Trypanosoma cruzi*, beyond the dogma of non-infection in birds. Infection, Genetics and Evolution 99, 105239, 2022.
- Monsalve-Lara, J., Lilioso, M., Valença-Barbosa, C., Thyssen, P. J., Miguel, D. C., Limeira, C., Gadelha, F. R., Fontes, F. V. H. M., Pires-Silva, D., Dornak, L. L., Lima, M. M., Donalisio, M. R., Almeida, C. E., 2021. The risk of oral transmission in an area of a Chagas disease outbreak in the Brazilian northeast evaluated through entomological, socioeconomic and schooling indicators. Acta Tropica 215, 105803.
- Nantes, W. A. G., Barreto, W. T. G., Santos, F. M., Macedo, G. C., Rucco, A. C., Assis, W. O., Porfírio, G. E. O., Andrade, G. B., Jansen, A. M., Herrer, H. M., 2019. The influence of parasitism by *Trypanosoma cruzi* in the hematological parameters of the white ear opossum (*Didelphis albiventris*) from Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. IJP: Parasites and Wildlife 9, 16–20.
- Nascimento, F. F., Lazar, A., Menezes, A. N., Durans, A. M., Moreira, J. C., Salazar-Bravo, J., D'Andrea, P. S., Bonvicino, C. R. (2013). The role of historical barriers in the diversification processes in open vegetation formations during the Miocene/Pliocene using an ancient rodent lineage as a model. PLoS One, 8 (4), e61924.
- Nichols, M. D., Lord, W. D., Haynie, M. L., Brennan, R. E., Jackson, V. L., Monterroso, W. S. 2019. *Trypanosoma cruzi* in a Mexican Free-Tailed Bat (*Tadarida brasiliensis*) in Oklahoma, USA. J. Wildl. Dis. 55 (2), 444–448.
- Ocaña-Mayorga, S., Bustillos, J. J., Villacís, A. G., Pinto, C. M., Brenière, S. F., Grijalva, M. J., 2021. Triatomine Feeding Profiles and *Trypanosoma cruzi* Infection, Implications in Domestic and Sylvatic Transmission Cycles in Ecuador. Pathogens 10 (1), 42.

- Ribeiro, G. Jr., Santos, C. G. S., Lanza, F., Reis, J., Vaccarezza, F., Diniz, C., Miranda, D. L. P., Araújo, R. F., Cunha, G. M., Carvalho, C. M. M., Fonseca, E. O. L., Santos, R. F., Sousa, O. M. F., Reis, R. B., Araújo, W. N., Gonçalves-Gurgel, R., Reis, M. G., 2019. Wide distribution of *Trypanosoma cruzi*-infected triatomines in the State of Bahia, Brazil. *Parasit. Vectors* 12 (1), 1-10.
- Rimoldi, A., Alves, R. T., Ambrósio, D. L., Fernandes, M. Z. T., Martinez, I., Araújo, R. F., Cicarelli, R. M. B., Rosa, J. A., 2012. Morphological, biological and molecular characterization of three strains of *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) isolated from *Triatoma sordida* (Stal) 1859 (Hemiptera, Reduviidae) and a domestic cat. *Parasitology* 139 (1), 37–44.
- Rosseto, L. A., Paiva, V. F., Belintani, T., Oliveira, J., Mendonça, V. J., Rosa, J. A., 2021. Checklist and phenetics studies of nymphs of two species of triatomines: *Triatoma lenti* Sherlock & Serafim, 1967 and *Triatoma sherlocki* Papa, Jurberg, Carcavallo, Cerqueira, Barata, 2002 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 54, e0394.
- Sangenis, L. H. C., Saraiva, R. M., Georg, I., Castro, L., Lima, V. S., Roque, A. L. R., Xavier, S. C. C., Santos, L. C., Fernandes, F. A., Sarquis, O., Lima, M. M., Carvalho-Costa, F. A., Bóia, M. N., 2015. Autochthonous transmission of Chagas disease in Rio de Janeiro State, Brazil: a clinical and eco-epidemiological study. *BMC Infect. Dis.* 15 (1), 1-12.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A. R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74, 5463–5467.
- Santos, F., Magalhães- Junior, J. T., Carneiro, I. O., Santos, F. L. N., Silva, A. A. O., Novais, J. M. C. B., Santos, J. S. S., Junior, G. R., Reis, M. G., Franke, C. R., 2022. Eco-epidemiology of vectorial *Trypanosoma cruzi* transmission in a region of northeast Brazil. *Acta Trop.* 225, 106184.
- SEI-Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia, 2018. Perfil dos Territórios de Identidade da Bahia: Semiárido Nordeste II, Itaparica, Sertão do São Francisco, Piemonte Norte do Itapicuru, Piemonte da Diamantina, Irecê, Velho Chico, Bacia do Rio Grande, Bacia do Rio Corrente. Salvador/BA: SEI, 3v., 2018, 252 p. Série territórios de identidade da Bahia. ISBN 978-85-8121-017-9. Available from: https://www.sei.ba.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=2000&Itemid=284 (accessado em 10 de agosto de 2020).
- Sousa, O. M. F., Santos, C. G. S., Santos, R. F., Fonseca, E. O. L., Lima, A. G. D., 2020. Triatomíneos da Bahia: Manual de identificação e orientações para o serviço. Oxente, 208p. <http://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2020/04/Livro860triatom%C3%ADneos-da-Bahia-E-BOOK.pdf> (accessado em 28 de agosto de 2020).
- Tabarelli, M., Leal, I. R., Scarano, F. R., Silva, J. M. C. D. (2017). The future of the Caatinga. In: *Caatinga*. Springer, Cham. p. 461-474.
- Vargas, A., Malta, J. M. A. S., Costa, V. M., Cláudio, L. D. G., Alves, R. V., Cordeiro, G. S., Aguiar, L. M. A., Percio J. 2018. Investigação de surto de doença de Chagas aguda na região extra-amazônica, Rio Grande do Norte, Brasil, 2016. *Cad. Saude Publica* 34 (1), e00006517.

Xavier, S. C. C., Vaz, V. C., D'Andrea, P. S., Herrera, L., Emperaire, L., Alves, J. R., Fernandes, O., Ferreira, L. F., Jansen, A. M., 2007. Mapping of the distribution of *Trypanosoma cruzi* infection among small wild mammals in a conservation unit and its surroundings (Northeast-Brazil). *Parasitol. Int.* 56 (2), 119–128.

Waniek, P. J., Araújo, C. A. C., Jansen, A. M., Costa, J., 2020. First genotyping of *Trypanosoma cruzi* from naturally infected *Triatoma juazeirensis*, *Triatoma melanica* and *Triatoma sherlocki* from Bahia State, Brazil *Medical and Veterinary Entomology* 35 (1), 134 - 140.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- No presente estudo foi possível detectar a infecção por *T. cruzi* em cães e animais silvestres (*K. rupestris* e *D. albiventris*), bem como nos triatomíneos *T. sherlocki* e *P. sherlocki*, no entanto é possível que o ciclo de transmissão de *T. cruzi* seja bem mais complexo envolvendo outras espécies de triatomíneos e animais silvestres presentes na região o que demanda uma maior abrangência e detalhamento em futuros estudos, especialmente para confirmar os animais reservatórios/hospedeiros para o protozoário, bem como, determinar os padrões alimentares dos triatomíneos.
- Ações frequentes de vigilância entomológica, busca ativa de casos e inclusão de conteúdos de educação em saúde nos materiais escolares, com posterior divulgação desses conteúdos para a população em geral seriam complementos indispensáveis para superação da ameaça representada pela DC.
- A detecção dos DTUs de *T. cruzi* das amostras de triatomíneos, cães e animais silvestres, que foram positivas neste estudo, são necessárias para melhor compreensão da transmissão desse protozoário na região.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEVI, K. C. C., OLIVEIRA, J., ROCHA, D. S., GALVÃO, C. Trends in Taxonomy of Chagas Disease Vectors (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): From Linnaean to Integrative Taxonomy. **Pathogens** 10, 1627, 2021.

ALMEIDA, C.E.; FOLLY-RAMOS, E.; PETERSON, A.T.; NEIVA-LIMA, V.; GUMIEL, M.; DUARTE, R.; LIMA, M.M.; LOCKS, M.; BELTRÃO, M.; COSTA, J. Could the bug *Triatoma sherlocki* be vectoring chagas disease in small mining communities in Bahia, Brazil? **Med. Vet. Entomol.** 23, 410–417, 2009.

ALMEIDA, C. E.; FAUCHER, L.; LAVINA, M.; COSTA, J.; HARRY, M. Molecular Individual-Based Approach on *Triatoma brasiliensis*: Inferences on Triatomine Foci, *Trypanosoma cruzi* Natural Infection Prevalence, Parasite Diversity and Feeding Sources. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, 18, 1-19, 2016.

ARAÚJO-NETO, V.T.; HONORATO, N.R.M.; SANTANA, R.O.; BARBOSA-SILVA, A.N.; GUEDES, P.M. M.; CHIARI, E.; GALVÃO, L.M.C.; CÂMARA, A.C.J. *Trypanosoma cruzi* circulating among dogs and triatomines in the endemic countryside of the State of Rio Grande do Norte, Brazil. **Acta Trop.** 200, 1–7, 2019.

BEZERRA, C. M.; CAVALCANTI, L. P. G.; SOUZA, R. C. M.; BARBOSA, S. E.; XAVIER, S. C. C.; JANSEN, A. M.; RAMALHO, R. D.; DIOTAIUTI, L. Domestic,

peridomestic and wild hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Caatinga area colonised by *Triatoma brasiliensis*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 109, 887-898, 2014.

BOTTO-MAHAN, C., CORREA, J. P., ARAYA-DONOSO, R., FARÍAS, F., SAN JUAN, E., QUIROGA, N., CAMPOS-SOTO, R., REYES-OLIVARES, C., GONZÁLEZ-ACUÑA, D. Lizards as Silent Hosts of *Trypanosoma cruzi*. **Emerging Infectious Diseases** 28, n. 6, 1250, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Óbitos e coeficiente de mortalidade (CM) tendo como causa básica doença de Chagas, segundo UF de residência, Brasil, 2010 a 2018**, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2020/dezembro/22/mortalidade-por-doenca-de-chagas-2010-a-2018.pdf>. Acesso em: 12 de novembro de 2021.

BUITRAGO, N. L. R.; BOSSENO, M. F.; WALECKX, E.; BRÉMOND, P.; VIDAURRE, P.; ZOVEDA, F.; BRENIÈRE, S. F. Risk of transmission of *Trypanosoma cruzi* by wild *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in Bolivia supported by the detection of human blood meals. **Infection, Genetics and Evolution** 19, 141–144, 2013.

CANTILLO-BARRAZA, O.; GARCÉS, E.; GÓMEZ-PALACIO, A.; CORTÉS, L.A.; PEREIRA, A.; MARCET, P.L.; JANSEN, A.M.; TRIANA-CHÁVEZ, O. Eco-epidemiological study of an endemic Chagas disease region in northern Colombia reveals the importance of *Triatoma maculate* (hemiptera: reduviidae), dogs and *Didelphis marsupialis* in *Trypanosoma cruzi* maintenance. **Parasites Vectors** 8, 1–10, 2015.

COSTA, J.; DORNAK, L.L.; ALMEIDA, C.E.; PETERSON, A.T. Distributional potential of the *Triatoma brasiliensis* species complex at present and under scenarios of future climate conditions. **Parasites & Vectors** 7, 1–15, 2014.

COSTA, A. P.; COSTA, F. B.; SOARES, H. S.; RAMIREZ, D. G. E.; MESQUITA, T. K. C.; GENNARI, S. M.; MARCILI, A. *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania infantum chagasi* Infection in Wild Mammals from Maranhão State, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases** 15, 1-11, 2015.

COURA, J. R., DIAS, J. C. P. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease - 100 years after its discovery. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 104 (Suppl. I), 31 - 40, 2009.

DAFLON-TEIXEIRA, N.F.; COUTINHO, C.; GOMES, T.F.; TOMA, H.K.; DUARTE, R.; BÓIA, M.N.; CARVALHO-COSTA, F.A.; ALMEIDA, C.E.; LIMA, M.M. Multiple approaches to address potential risk factors of chagas disease transmission in northeastern Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 100, 296–302, 2019.

DIAS, J.C.P., RAMOS, A.N., GONTIJO, E.D., LUQUETTI, A., SHIKANAI-YASUDA, M.A., COURA, J.R., TORRES, R.M., MELO, J.R.C., ALMEIDA, E.A., OLIVEIRA, W., SILVEIRA, A.C., REZENDE, J.M., PINTO, F.S., FERREIRA, A.W., RASSI, A., FRAGATA-FILHO, A.A., SOUSA, A.S., CORREIA-FILHO, D., JANSEN, A.M., ANDRADE, G.M.Q., BRITTO, C.F.P.C., PINTO, A.Y.N., RASSI, A., CAMPOS, D.E., ABAD-FRANCH, F., SANTOS, S.E., CHIARI, E., HASSLOCHER-MORENO, A.M., MOREIRA, E.F., MARQUES, D.S.O., SILVA, E.L., MARIN-NETO, J.A., GALVÃO, L.M.C., XAVIER, S.S., VALENTE, S.A.S., CARVALHO, N.B., CARDOSO, A.V., SILVA, R.A., COSTA, V.M., VIVALDINI, S.M., OLIVEIRA, S.M., VALENTE, V.C., LIMA, M.M.,

ALVES, R.V. II Consenso Brasileiro em doença de Chagas, 2015. **Epidemiol. Serv. Saúde** 25, 7–86, 2016.

FLORES-FERRER, A.; WALECKX, E.; RASCALOU, G.; DUMONTEIL, E.; GOURBIÈRE, S. *Trypanosoma cruzi* transmission dynamics in a synanthropic and domesticated host community. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 13, 1-24, 2019.

GALVÃO, C., org. **Vetores da doença de chagas no Brasil** [online]. Curitiba/PR: Sociedade Brasileira de Zoologia, 289p, 2014. Série Zoologia: guias e manuais de identificação. ISBN 978-85-98203-09-6. Disponível em: <https://doi.org/10.7476/9788598203096>. Acesso em 11 de fevereiro de 2020.

GIL-SANTANA, H. R., CHAVEZ, T., PITA, S., PANZERA, F., GALVÃO, C. *Panstrongylus noireaudi*, a remarkable new species of Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) from Bolivia. **ZooKeys** 1104, 203–225, 2022.

HERNÁNDEZ, C.; SALAZAR, C.; BROCHERO, H.; TEHERÁN, A.; BUITRAGO, L. S.; VERA, M.; SOTO, H.; FLOREZ-RIVADENEIRA, Z.; ARDILA, S.; PARRA-HENAO, G.; RAMÍREZ, J. D. Untangling the transmission dynamics of primary and secondary vectors of *Trypanosoma cruzi* in Colombia: parasite infection, feeding sources and discrete typing units. **Parasites & Vectors** 9, 1-12, 2016.

HERRERA, L.; D’ANDREA, P. S.; XAVIER, S. C.; MANGIA, R. H.; FERNANDES, O.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi* infection in wild mammals of the National Park ‘Serra da Capivara’ and its surroundings (Piauí, Brazil), an area endemic for Chagas disease. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** 99, 379–88, 2005.

IMAI, K.; MISAWA, K.; OSA, M.; TARUMOTO, N.; SAKAI, J.; MIKITA, K.; SAYAMA, Y.; FUJIKURA, Y.; KAWANA, A.; MURAKAMI, T.; MAESAKI, S.; MIURA, S.; MAEDA, T. Chagas disease: a report of 17 suspected cases in Japan, 2012–2017. **Tropical Medicine and Health** 47, 1-5, 2019.

JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C. D. C.; ROQUE, A. L. R. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. **Parasit. Vectors** 11, 1-25, 2018.

JURBERG, J.; CARVALHO, R.U.; LENT, H. *Panstrongylus sherlocki* sp.n. do estado da Bahia, Brasil (hemiptera, reduviidae, triatominae). **Entomol. Vectores** 8, 261–274, 2001.

LILIOSO, M.; REIGADA, C.; PIRES-SILVA, D.; FONTES, F. H. M.; LIMEIRA, C.; MONSALVE-LARA, J.; FOLLY-RAMOS, E.; HARRY, M.; COSTA, J.; ALMEIDA, C. E. Dynamics of food sources, ecotypic distribution and *Trypanosoma cruzi* infection in *Triatoma brasiliensis* from the northeast of Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases** 28, 1-18, 2020.

LIMA, M.M.; SARQUIS, O.; OLIVEIRA, T.G.; GOMES, T.F.; COUTINHO, C.; DAFLON-TEIXEIRA, N.F.; TOMA, H.K.; BRITTO, C.; TEIXEIRA, B.R.; D’ANDREA, P.S.; JANSEN, A.M.; BÓIA, M.N.; CARVALHO-COSTA, F.A. Investigation of Chagas disease in four periurban areas in northeastern Brazil: epidemiologic survey in man, vectors, non-human hosts and reservoirs. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 106, 143–149, 2012.

- MARTINS-MELO, F. R.; RAMOS, A.N.; ALENCAR, C.H.; HEUKELBACH, J. Prevalence of Chagas disease in Brazil: a systematic review and meta-analysis. **Acta Trop** 130, 167–174, 2014.
- MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, F., ORIA-MARTÍNEZ, B., RENDÓN-FRANCO, E., VILLALOBOS, G., MUÑOZ-GARCÍA, C. I. *Trypanosoma cruzi*, beyond the dogma of non-infection in birds. **Infection, Genetics and Evolution** 99, 105239, 2022.
- MENDONÇA, V.J.; SILVA, M.T.A.; ARAÚJO, R.F.; MARTINS-JÚNIOR, J.; BACCII-JÚNIOR, M.; ALMEIDA, C.E.; COSTA, J.; GRAMINHA, M.A.S.; CICARELLI, R.M.B.; ROSA, J.A. Phylogeny of *Triatoma sherlocki* (hemiptera: reduviidae: triatominae) inferred from two mitochondrial genes suggests its location within the *Triatoma brasiliensis* complex. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 81, 858–864, 2009.
- NANTES, W. A. G., BARRETO, W. T. G., SANTOS, F. M., MACEDO, G. C., RUCCO, A. C., ASSIS, W. O., PORFÍRIO, G. E. O., ANDRADE, G. B., JANSEN, A. M., HERRER, H. M. The influence of parasitism by *Trypanosoma cruzi* in the hematological parameters of the white ear opossum (*Didelphis albiventris*) from Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **IJP: Parasites and Wildlife** 9, 16–20, 2019.
- PAIVA V.F., AMBROZINI L.M., PINOTTI H. 2020. *Triatoma sordida*. Coleção de Triatominae - Unesp Araraquara. Disponível em: <https://www2.fcfar.unesp.br/#!/triatominae/subfamilia-triatominae/triatoma/triatoma-sordida/>. Acesso em: 06 de junho 2022.
- PAPA, A.R.; JURBERG, J.; CARCAVALLO, R.U.; CERQUEIRA, R.L.; BARATA, J.M.S. *Triatoma sherlocki* sp. n. coletada na Bahia, Brasil (hemiptera, reduviidae, triatominae). **Entomol. Vectores** 9, 133–146, 2002.
- PINOTTI H., AMBROZINI L.M. 2020. *Triatoma sherlocki*. Coleção de Triatominae - Unesp Araraquara. Disponível em: <https://www2.fcfar.unesp.br/#!/triatominae/subfamilia-triatominae/triatoma/triatoma-sherlocki/>. Acesso em: 06 de junho 2022.
- RIBEIRO, A.R.; MENDONÇA, V.J.; ALVES, R.T.; MARTINEZ, I.; ARAÚJO, R.F.; MELLO, F.; ROSA, J.A. *Trypanosoma cruzi* strains from triatomine collected in Bahia and Rio Grande do Sul, Brazil. **Rev. Saúde Pública** 48, 295–302, 2014.
- RIBEIRO JR., G.; GURGEL-GONCALVES, R.; REIS, R.B.; SANTOS, C.G.S.; AMORIM, A.; ANDRADE, S. G.; REIS, M. G. Frequent house invasion of *Trypanosoma cruzi*-infected triatomines in a suburban area of Brazil. **PLoS Negl. Trop. Dis.** 9, 1–10, 2015.
- RIBEIRO JR., G.; SANTOS, C.G.S.; LANZA, F.; REIS, J.; VACCAREZZA, F.; DINIZ, C.; MIRANDA, D.L. P.; ARAÚJO, R.F.; CUNHA, G.M.; CARVALHO, C.M.M.; FONSECA, E.O.L.; SANTOS, R.F.; SOUSA, O.M.F.; REIS, R.B.; ARAÚJO, W.N.; GONÇALVES-GURGEL, R.; REIS, M.G. Wide distribution of *Trypanosoma cruzi*-infected triatomines in the State of Bahia, Brazil. **Parasites Vectors** 12, 1–10, 2019.
- RIMOLDI, A.; ALVES, R. T.; AMBRÓSIO, D. L.; FERNANDES, M. Z. T.; MARTINEZ, I.; ARAÚJO, R. F.; CICARELLI, R. M. B.; ROSA, J. A. Morphological, biological and molecular characterization of three strains of *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909

(Kinetoplastida, Trypanosomatidae) isolated from *Triatoma sordida* (Stal) 1859 (Hemiptera, Reduviidae) and a domestic cat. **Parasitology** 139, 37–44, 2012.

SANGENIS, L. H. C.; SARAIVA, R. M.; GEORG, I.; CASTRO, L.; LIMA, V. S.; ROQUE, A. L. R.; XAVIER, S. C. C.; SANTOS, L. C.; FERNANDES, F. A.; SARQUIS, O.; LIMA, M. M.; CARVALHO-COSTA, F. A.; BÓIA, M. N. Autochthonous transmission of Chagas disease in Rio de Janeiro State, Brazil: a clinical and eco-epidemiological study. **BMC Infectious Diseases** 15, 1-12, 2015.

SESAB. Secretária de Saúde do Estado da Bahia. **Boletim Epidemiológico da Doença de Chagas no estado da Bahia**, nº 1, janeiro de 2018. In: Doenças e Agravos: Doença de Chagas. Disponível em: <http://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2017/11/2018-Boletim-epidemiol%C3%B3gico-Doen%C3%A7as-de-Chagas-n.-01.pdf>. Acesso em: 12 de novembro de 2021.

SOUSA, O. M. F.; SANTOS, C. G. S.; SANTOS, R. F.; FONSECA, E. O. L.; LIMA, A. G. D., orgs. **Triatomíneos da Bahia: manual de identificação e orientações para o serviço**. 1. ed. Salvador/BA: Oxente, 208p, 2020. ISBN 978-65-5100-007-2. E-book. Disponível em: <http://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2020/04/Livro-triatom%C3%ADneos-da-Bahia-E-BOOK.pdf>. Acesso em: 28 de agosto de 2020.

SOUZA, E. S., VON ATZINGEN, N. C. B., FURTADO, M. B., OLIVEIRA, J., NASCIMENTO, J. D., VENDRAMI, D. P., GARDIM, S., ROSA, J. A. Description of *Rhodnius marabaensis* sp. n. (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) from Pará State, Brazil. **ZooKeys** 621, 45 – 62, 2016.

VINHAES, M.C.; OLIVEIRA, S.V.; REIS, P.O.; SOUSA, A.C.L.; SILVA, R.A.; OBARA, M.T.; BEZERRA, C.M.; COSTA, V.M.; ALVES, R.V.; GURGEL-GONCALVES, R. Assessing the vulnerability of Brazilian municipalities to the vectorial transmission of *Trypanosoma cruzi* using multi-criteria decision analysis. **Acta Trop.** 137, 105–110, 2014.

WHO. World Health Organization. **Chagas disease (American trypanosomiasis): Overview**. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/chagas/en/>. Acesso em: 11 de novembro de 2021.

APÊNDICE 1 – Print da primeira página do artigo do Capítulo 1

Acta Tropica 225 (2022) 106184



Contents lists available at ScienceDirect

Acta Tropica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/actatropica



Eco-epidemiology of vectorial *Trypanosoma cruzi* transmission in a region of northeast Brazil

Flavia Santos^{a,b}, Jairo Torres Magalhães-Junior^b, Ianei de Oliveira Carneiro^{c,d}, Fred Luciano Neves Santos^e, Ângelo Antônio Oliveira Silva^e, Joane Máira Cavalcante Braga Novais^b, Jessica Samile Sousa Santos^b, Gilmar Ribeiro-Jr^e, Mitermayer G. Reis^{e,f,g}, Carlos Roberto Franke^{a,h}

^a Postgraduate Program in Animal Science in the Tropics, School of Veterinary Medicine and Animal Science, Federal University of Bahia-UFBA, Av. Adhemar de Barros, 500, Salvador, Bahia 40170-110, Brazil

^b Multidisciplinary Center of the Campus de Barra (CMB) of the Federal University of West Bahia – UFOB, 23 de Agosto, s/n, Barra, Bahia 47100-000, Brazil

^c Salvador University-UNIFACS, Av. Luiz Viana Filho, 3146, Salvador, Bahia 41720-200, Brazil

^d Postgraduate Program in Collective Health, Collective Health Institute (ISC), Federal University of Bahia-UFBA, Basílio da Gama, s/n, Salvador, Bahia 40110-040, Brazil

^e Gonçalo Moniz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Ministry of Health, Waldemar Falcão Street, 121, Salvador, Bahia 40296-710, Brazil

^f Faculty of Medicine of Bahia, Federal University of Bahia, Praça Conselheiro Almeida Couto, s/n - Largo do Terreiro de Jesus, Salvador, BA 40025-010, Brazil

^g Department of Epidemiology of Microbial Diseases, School of Public Health, Yale University, 60 College Street, P.O. Box 208084, New Haven, CT, USA

ARTICLE INFO

Keywords:

Chagas disease
Hosts
Panstrongylus sherlocki
Triatoma sherlocki
Triatoma sordida
Knowledge
Attitudes
Practice

ABSTRACT

Chagas disease (CD) is a parasitic zoonosis endemic in Brazil. Despite virtual control of *Triatoma infestans*, the main domesticated vector of *Trypanosoma cruzi*, vectorial transmission by other triatomine species persists in some rural communities. This study aims to characterize triatomines role in transmitting *T. cruzi* to dogs and humans in the district of Santo Inácio, located in the northwest region of the state of Bahia, Brazil. It also describes environmental factors in housings associated with insect occurrence and assesses the perception, knowledge, and preventive practices adopted by the population regarding CD. Blood samples of humans and dogs, and biological samples of triatomines, were collected between November 2018 and February 2019 and subjected to the detection of *T. cruzi* by serological and molecular biology tests. Also, we applied a questionnaire to research the perception, knowledge, and local practices of people related to CD. The capture of triatomines in households was associated with exploratory variables of the questionnaires using multivariate logistic regression ($p < 0.05$). The 155 triatomines captured in the wild and domestic environment were of the species *Triatoma sherlocki* ($n = 151$), *Panstrongylus sherlocki* ($n = 1$) and *Triatoma sordida* ($n = 3$), and had a natural infection rate for *T. cruzi* by PCR of 18.5%, 100% and 0%, respectively. District residents ($n = 126$) were seronegative for *T. cruzi*, while 17.5% (7/40) of the dogs were seropositive. The fact that residents are aware that triatomines can “cause” CD was configured as a protection factor for residents according to the fitted logistic regression model ($p = 0.04$). However, respondents have limited perception and knowledge about the CD, prevention and control practices for triatomines in a household. The results suggest the existence of a domestic cycle of transmission of *T. cruzi* between triatomines and dogs, configuring a latent risk of infection to the human population of Santo Inácio. Studies that clarify the potential for the establishing of intrusive triatomines in households, surveillance actions for triatomines, and health education in rural communities are indispensable to prevent the reemergence of CD in vulnerable regions of Brazil and other American countries with similar epidemiological characteristics.

APÊNDICE 2 - Print do comprovante de submissão do artigo do Capítulo 2

Confirm co-authorship of submission to Acta Tropica

1 mensagem

Acta Tropica <em@editorialmanager.com>

3 de maio de 2022 16:24

Responder a: Acta Tropica <support@elsevier.com>

Para: Flavia Santos <flavia.dossantos@ufob.edu.br>

This is an automated message.

Journal: Acta Tropica

Title: Wild mammals involved in the transmission of Trypanosoma cruzi and food sources of triatomines in an endemic region of northeastern Brazil.

Corresponding Author: Prof. Carlos Roberto Franke

Co-Authors: Flavia Santos; Jairo Torres Magalhães-Junior; Ianei de Oliveira Carneiro; Sabrina Mota Lambert; Bárbara Maria Paraná da Silva Souza; Alini Dias de Pauda; Marcondes Pessoa de Freitas

Manuscript Number:

Dear Flavia Santos,

The corresponding author Prof. Carlos Roberto Franke has listed you as a contributing author of the following submission via Elsevier's online submission system for Acta Tropica.

Submission Title: Wild mammals involved in the transmission of Trypanosoma cruzi and food sources of triatomines in an endemic region of northeastern Brazil.

Elsevier asks all authors to verify their co-authorship by confirming agreement to publish this article if it is accepted for publication.

Please read the following statement and confirm your agreement by clicking on this link:

<https://www.editorialmanager.com/actrop/l.asp?i=222251&l=A1Z7HOYB>

I irrevocably authorize and grant my full consent to the corresponding author of the manuscript to: (1) enter into an exclusive publishing agreement with Elsevier on my behalf (or, if the article is to be published under a CC BY license, a non-exclusive publishing agreement), in the relevant form set out at www.elsevier.com/copyright; and (2) unless I am a US government employee, to transfer my copyright or grant an exclusive license of rights (or for CC BY articles a non-exclusive license of rights) to Elsevier as part of that publishing agreement, effective on acceptance of the article for publication. If the article is a work made for hire, I am authorized to confirm this on behalf of my employer. I agree that the copyright status selected by the corresponding author for the article if it is accepted for publication shall apply and that this agreement is subject to the governing law of the country in which the journal owner is located.

If you did not co-author this submission, please contact the corresponding author directly at frankeufba@gmail.com.

Thank you,
Acta Tropica

APÊNDICE 3 – Questionário sobre a doença de Chagas



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA
CENTRO MULTIDISCIPLINAR *CAMPUS DE BARRA*

Questionário da Doença de Chagas na Perspectiva do Chefe da casa

ETIQUETA DE IDENTIFICAÇÃO	Nº DO QUESTIONÁRIO _____	Nº DE IDENTIFICAÇÃO DO ENTREVISTADO _____
---------------------------	--------------------------	---

1-Entrevistador: _____
2-Data da Entrevista: __ / __ / ____
3-Município: _____
4-Endereço: _____
5-Quanto tempo mora aqui? _____ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾
6-Quantas pessoas no total moram na casa? _____ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾ Outros _____ ⁽⁹⁹⁾
7-Nome: _____
8-Data de nascimento: __ / __ / ____
9-Nasceu em um povoado? Qual? _____ Não se aplica ⁽⁰⁾ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾ Outros _____ ⁽⁹⁹⁾
10-Município de nascimento: _____ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾
11-Residiu em um povoado anteriormente? Sim ⁽¹⁾ Não ⁽²⁾ Não se aplica ⁽⁰⁾ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾

12-Qual o nome do povoado? _____ Não se aplica ①	
Não quer responder ⑦⑦	Não sabe responder ⑧⑧
13-Município de residência anterior _____ Não se aplica ①	
Não quer responder ⑦⑦	Não sabe responder ⑧⑧
14-Sexo: Masculino ① Feminino ②	
15-Gestante: 1º Trimestre ① 2º Trimestre ② 3º Trimestre ③ Não ④	
Não se aplica ①	Não quer responder ⑦⑦ Não sabe responder ⑧⑧
Outros _____ ⑨⑨	
16- Cor da pele: Branca ① Preta ② Amarela ③ Parda ④ Indígena ⑤ Ignorada ⑥	
Não quer responder ⑦⑦	Não sabe responder ⑧⑧
Outros _____ ⑨⑨	
17-Estado civil: Solteiro ① Casado ② Viúvo ③ União Estável ④ Divorciado ⑤	
Não quer responder ⑦⑦	Não sabe responder ⑧⑧ Outros _____ ⑨⑨
18- Estudou até que série?	
Não alfabetizado ①	Ensino fundamental incompleto ②
Ensino fundamental completo ③	Ensino médio incompleto ④
Ensino médio completo ⑤	Ensino superior incompleto ⑥
Ensino superior completo ⑦	Não quer responder ⑦⑦ Não sabe responder ⑧⑧
Outros _____ ⑨⑨	
19-Renda mensal da família (Receita Federal):	
Abaixo de R\$ 300,00 ①	Entre R\$ 300,00 e R\$ 954,00 ②
Entre R\$ 954,00 e R\$ 1.908,00 ③	Entre R\$ 1.909,00 e R\$2.862,00 ④
Acima de R\$2.862,00 ⑤	Não quer responder ⑦⑦ Não sabe responder ⑧⑧ Outros _____ ⑨⑨
20-Você já ouviu falar do barbeiro? Sim ① Não ② Não quer responder ⑦⑦	
Não sabe responder ⑧⑧	
21-Onde? Cartaz ① Informação do agente de saúde ②	
Informação escolar ③	Informação de familiares/amigos ④
Rádio/TV ⑤	Internet ⑥
Não se aplica ①	Não quer responder ⑦⑦ Não sabe responder ⑧⑧ Outros _____ ⑨⑨
22-Você já encontrou um barbeiro na sua casa? Sim ① Não ② Não se aplica ①	
Não quer responder ⑦⑦	Não sabe responder ⑧⑧ Outros _____ ⑨⑨

<p>23-Onde você encontrou o barbeiro? Rol ou varanda① Sala② Cozinha③ Quarto④ Banheiro⑤ Quintal⑥ Área de serviço⑦ Despensa⑧ Na rua⑨</p> <p>Ambiente de trabalho⑩ Galinheiro⑪ Garagem⑫ Não se aplica⑬</p> <p>Não quer responder⑭ Não sabe responder⑮ Outros_____⑯</p>
<p>Caso a resposta seja ambiente de trabalho responda a próxima pergunta.</p>
<p>24-Em qual ambiente de trabalho? Garimpo① Roça② Escola③</p> <p>Pedras da mata④ Posto de saúde e hospital⑤ Lojas do comércio⑥</p> <p>Não se aplica⑬ Não quer responder⑭ Não sabe responder⑮</p> <p>Outros_____⑯</p>
<p>25-O que você fez ao encontrar o barbeiro?</p> <p>Avisou ou entregou ao agente de saúde①</p> <p>Avisou ou entregou ao centro de saúde② Matou imediatamente o inseto③</p> <p>Não tomou providência④ Não se aplica⑬ Não quer responder⑭</p> <p>Não sabe responder⑮ Outros_____⑯</p>
<p>26-Para qual local deve ser encaminhado o barbeiro na região?</p> <p>Escola① Posto de saúde② Secretaria Municipal de Saúde③ SUCAM④</p> <p>Superintendência Regional de Saúde⑤ Vigilância Sanitária⑥ Não se aplica⑬</p> <p>Não quer responder⑭ Não sabe responder⑮ Outros_____⑯</p>
<p>27-Por que as pessoas tem tanto medo do barbeiro?</p> <p>Incomoda muita gente① Não tem importância② Transmite doença③ Porque mata④ Não se aplica⑬</p> <p>Não quer responder⑭</p> <p>Não sabe responder⑮ Outros_____⑯</p>
<p>28-Conhece alguém que já foi picado pelo barbeiro? Sim① Não②</p> <p>Não se aplica⑬ Não quer responder⑭ Não sabe responder⑮ Outros_____⑯</p>
<p>29-Você faz alguma coisa para evitar os barbeiros? Sim① Não②</p> <p>Não se aplica⑬ Não quer responder⑭ Não sabe responder⑮ Outros_____⑯</p>
<p>30-O que você faz para evitar os barbeiros em casa?</p> <p>Mantem o galinheiro afastado das casas e limpo①</p>

<p>Utiliza inseticidas ⁽²⁾ Evita frestas em paredes ⁽³⁾ Evita entulhos ao redor da casa ⁽⁴⁾ Procura o barbeiro na cama e colchões ⁽⁵⁾ Limpeza, evitar sujeira, lixo ⁽⁶⁾ Não se aplica ⁽⁰⁾ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾ Outros _____ ⁽⁹⁹⁾</p>
<p>31-Quais dos insetos é um barbeiro? Mostrou corretamente ⁽¹⁾ Mostrou incorretamente ⁽²⁾ Não se aplica ⁽⁰⁾ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾ Outros _____ ⁽⁹⁹⁾</p>
<p>32-O barbeiro transmite alguma doença? Sim ⁽¹⁾ Não ⁽²⁾ Não se aplica ⁽⁰⁾ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾ Outros _____ ⁽⁹⁹⁾</p>
<p>33-Qual doença o barbeiro transmite? _____ Não se aplica ⁽⁰⁾ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾ Outros _____ ⁽⁹⁹⁾</p>
<p>34-Você sabe o que é a doença de Chagas? Sim ⁽¹⁾ Não ⁽²⁾ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾</p>
<p>35-Conhece alguém que tem ou teve a doença de Chagas? Sim ⁽¹⁾ Não ⁽²⁾ Não se aplica ⁽⁰⁾ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾</p>
<p>36-Quem? O próprio entrevistado ⁽¹⁾ Cônjuge ⁽²⁾ Filhos ⁽³⁾ Irmãos ⁽⁴⁾ Pais ⁽⁵⁾ Avós ⁽⁶⁾ Conhecido ⁽⁷⁾ Não se aplica ⁽⁰⁾ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾ Outros _____ ⁽⁹⁹⁾</p>
<p>37-A doença de Chagas acomete quais partes do corpo? Fígado ⁽¹⁾ Pulmões ⁽²⁾ Rins ⁽³⁾ Coração ⁽⁴⁾ Intestino ⁽⁵⁾ Esôfago ⁽⁶⁾ Estômago ⁽⁷⁾ Não se aplica ⁽⁰⁾ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾ Outros _____ ⁽⁹⁹⁾</p>
<p>38- Essa doença é considerada grave? Sim ⁽¹⁾ Não ⁽²⁾ Não se aplica ⁽⁰⁾ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾ Outros _____ ⁽⁹⁹⁾ Por que? _____</p>
<p>39-A doença de Chagas tem cura? Sim ⁽¹⁾ Não ⁽²⁾ Não se aplica ⁽⁰⁾ Não quer responder ⁽⁷⁷⁾ Não sabe responder ⁽⁸⁸⁾ Outros _____ ⁽⁹⁹⁾</p>

40- Como “pega” a doença de Chagas? Contato com doentes ^①		
Por meio do barbeiro ^②	Ingestão de açaí ^③	Ingestão de caldo de cana ^④
Não se aplica ^①	Não quer responder ^{⑦⑦}	Não sabe responder ^{⑧⑧}
Outros _____ ^{⑨⑨}		
41- Como evitar a doença de Chagas?		
		Fervendo a água ^①
Conservando e limpando a casa ^②		Aplicando inseticida ^③
Vacinando pessoas ^④	Rebocando a casa ^⑤	Não se aplica ^①
Não quer responder ^{⑦⑦}	Não sabe responder ^{⑧⑧}	Outros _____ ^{⑨⑨}
42-Existe serviço de controle da doença de Chagas na região? Sim ^① Não ^② Não se aplica ^①		
Não quer responder ^{⑦⑦} Não sabe responder ^{⑧⑧}		
43-Responde à questão abaixo caso a resposta da pergunta anterior seja sim. Qual a principal ação desse serviço? _____		
Não se aplica ^① Não quer responder ^{⑦⑦} Não sabe responder ^{⑧⑧}		
44-Qual é a sua sugestão para melhorar o serviço de controle da doença de Chagas? O agente de endemias passar nas residências com mais frequência ^① Pulverizar as casas com inseticidas ^② Realizar atividades de educação em saúde (palestras) ^③ Melhorias na infraestrutura da casa (rebocada) ^④ Não se aplica ^① Não quer responder ^{⑦⑦} Não sabe responder ^{⑧⑧} Outros _____ ^{⑨⑨}		
45-Você tem alguma queixa de saúde? Sim ^① Não ^②		
Não quer responder ^{⑦⑦} Não sabe responder ^{⑧⑧}		
46-Quais? _____		
Não se aplica ^① Não quer responder ^{⑦⑦} Não sabe responder ^{⑧⑧}		
47-Já foi submetido a transfusão de sangue? Sim ^① Não ^②		
Não quer responder ^{⑦⑦} Não sabe responder ^{⑧⑧}		
48-Já foi submetido a transplante de órgão? Sim ^① Não ^②		
Não quer responder ^{⑦⑦} Não sabe responder ^{⑧⑧}		
49-Tem o hábito de comer açaí? Sim ^① Não ^②		
Não quer responder ^{⑦⑦} Não sabe responder ^{⑧⑧}		
50-Tem o hábito de tomar caldo de cana? Sim ^① Não ^②		
Não quer responder ^{⑦⑦} Não sabe responder ^{⑧⑧}		
51-Tem o hábito de preparar caça? Sim ^① Não ^②		
Não quer responder ^{⑦⑦} Não sabe responder ^{⑧⑧}		
52-Tem o hábito de comer caça? Sim ^① Não ^②		
Não quer responder ^{⑦⑦} Não sabe responder ^{⑧⑧}		

53-Qual? _____	Não se aplica ⁰
Não quer responder ⁷⁷	Não sabe responder ⁸⁸
54-Você já foi picado pelo barbeiro? Sim ¹	Não ² Não se aplica ⁰
Não quer responder ⁷⁷	Não sabe responder ⁸⁸
55-Quantas vezes você foi picado? Um ¹ Duas ² Três ³ Quatro ⁴ Cinco ⁵ Seis ⁶ Sete ⁷ Oito ⁸ Nove ⁹ Acima de dez ⁰	Não se aplica ⁰
Não quer responder ⁷⁷	Não sabe responder ⁸⁸ Outros _____ ⁹⁹
56-Lembra quando foi a última vez (mês e ano)? _____	Não se aplica ⁰
Não quer responder ⁷⁷	Não sabe responder ⁸⁸ Outros _____ ⁹⁹
57-Teve algum familiar ou amigo que faleceu devido uma morte desconhecida? Sim ¹ Não ²	Não quer responder ⁷⁷ Não sabe responder ⁸⁸
58-O que ele sentia? _____	Não se aplica ⁰ Não quer responder ⁷⁷ Não sabe responder ⁸⁸
59-Você usa mosquiteiro? Sim ¹	Não ² Não quer responder ⁷⁷ Não sabe responder ⁸⁸
60-Como usa? Coloca preso no colchão ¹ Deixa solto ² Não se aplica ⁰	Não quer responder ⁷⁷ Não sabe responder ⁸⁸ Outros _____ ⁹⁹

ANEXO 1 – Autorização do ICMBio/SISBIO para captura de animais silvestres.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 61011-2	Data da Emissão: 26/11/2018 18:19:56	Data da Revalidação*: 26/11/2019
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: JAIRO TORRES MAGALHÃES JUNIOR	CPF: 030.044.415-00
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA	CNPJ: 18.641.263/0001-45

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Captura e identificação taxonômica de flebotomíneos	10/2018	10/2021
2	Captura, identificação e coleta de amostras de pequenos mamíferos silvestres	10/2018	10/2021
3	Captura e identificação taxonômica de triatomíneos	10/2018	10/2021

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Flávia dos Santos	Pesquisadora	019.968.065-56	Brasileira
2	CARLOS ROBERTO FRANKE	Pesquisador	268.922.190-04	Brasileira
3	IANEI DE OLIVEIRA CARNEIRO	Pesquisadora	808.978.435-68	Brasileira

Ati
A-22

ANEXO 2 – Autorização do CEP para coleta de amostras em humanos.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
OESTE DA BAHIA - UFOB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA DE CHAGAS NO MUNICÍPIO DE GENTIO DO OURO-BA

Pesquisador: FLAVIA DOS SANTOS

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 91856418.0.0000.8060

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.965.700

Continuação do Parecer: 2.965.700

Justificativa de Ausência	tlcleresponsavelpelomenor.pdf	15/10/2018 17:50:13	FLAVIA DOS SANTOS	Aceito
Cronograma	novocronograma.pdf	15/10/2018 17:44:02	FLAVIA DOS SANTOS	Aceito
Outros	Leidiane.pdf	16/06/2018 21:44:04	FLAVIA DOS SANTOS	Aceito
Outros	Jairo.pdf	16/06/2018 21:43:06	FLAVIA DOS SANTOS	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	06/06/2018 18:07:48	FLAVIA DOS SANTOS	Aceito
Outros	Compromisso.pdf	06/06/2018 17:23:56	FLAVIA DOS SANTOS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Institucional.pdf	06/06/2018 17:15:54	FLAVIA DOS SANTOS	Aceito
Outros	questionario.pdf	06/06/2018 07:08:07	FLAVIA DOS SANTOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	06/06/2018 06:59:25	FLAVIA DOS SANTOS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BARREIRAS, 17 de Outubro de 2018

Assinado por:
Dayane Otero Rodrigues
(Coordenador(a))

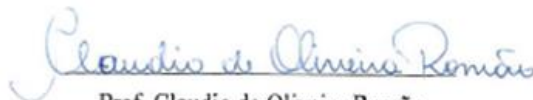
ANEXO 3 – Autorização do CEUA/UFBA para coleta de amostras em cães.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **Monitoramento e controle das leishmanioses e doenças de chagas na Região Oeste da Bahia**, registrada com o nº **75/2017**, sob a responsabilidade do **Professor Jairo Torres Magalhães Júnior** e que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)** da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, **em reunião de 14/11/2017**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	05/03/2018 a 05/03/2020
Espécie/linhagem/raça	Animais domésticos (cães e gatos)
Nº de animais	300
Peso/Idade	Variável
Sexo	Ambos
Origem	Matadouro

Salvador, 14 de novembro de 2017.



Prof. Cláudio de Oliveira Romão
Coordenador CEUA/EMEVZ-UFBA